



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DANIELLE DE ABREU SILVA

PRODUÇÃO E TEOR DE FLAVONÓIDES DA PRÓPOLIS COLETADA POR *Apis mellifera* EM TRÊS FITOFISIONOMIAS NO ESTADO DO CEARÁ

FORTALEZA

2009

DANIELLE DE ABREU SILVA

PRODUÇÃO E TEOR DE FLAVONÓIDES DA PRÓPOLIS COLETADA POR *Apis mellifera* EM TRÊS FITOFISIONOMIAS NO ESTADO DO CEARÁ

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. PhD. Breno Magalhães Freitas.

Co-orientador: Dr. Ícaro Gusmão Pinto Viera

FORTALEZA

2009

DANIELLE DE ABREU SILVA

PRODUÇÃO E TEOR DE FLAVONÓIDES DA PRÓPOLIS COLETADA POR *Apis mellifera* EM TRÊS FITOFISIONOMIAS NO ESTADO DO CEARÁ

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Produção Animal.

Aprovada em: 24/09/2009

BANCA EXAMINADORA

Prof. PhD. Breno Magalhães Freitas (Orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira (Co-orientador)
Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC- UFC)

Dra. Ana Cláudia Marinho da Silva (Conselheira)
Centro Universitário Estácio do Ceará

Aos meus pais, Francisco Demontier Andrade
Silva e Francisca Helena de Abreu Silva

AGRADECIMENTOS

À DEUS, primeiramente, vai meus sinceros agradecimentos, por me proporcionar a vida, que é o bem mais precioso de um ser humano.

À minha família, pelo apoio e compreensão durante esse tempo de curso.

À Universidade Federal do Ceará, mais precisamente ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de execução do Curso de Mestrado em Zootecnia bem como ao corpo docente que o compõem.

Ao Professor Breno Magalhães Freitas, por ser meu Orientador e por seus ensinamentos.

Ao Dr. Ícaro Gusmão pela co-orientação, pelo apoio nas análises efetuadas e finalização deste trabalho.

À Dra. Ana Cláudia Marinho da Silva, pela idéia inicial da pesquisa a ser efetuada para obtenção do título de mestre.

À Dra. Noélia Pereira Mendes, superintendente do PADETEC (Parque de Desenvolvimento e Tecnologia).

Ao Willams Pereira Batista, por sua imensa ajuda na parte experimental deste trabalho e ainda por seus conselhos.

Ao professor Gabrimar Araújo Martins, pela ajuda pelas orientações e colaboração nas análises estatísticas necessárias a esta dissertação.

Ao seu Francisco (Chico), por ceder parte de seu apiário, Colibri, para realização desse experimento. Ao Dr. Odério, por ceder as caixas com coletores de própolis, além de parte de seu apiário, Altamira, para coletar o material necessário. Ao Joacir e a Mara, por também permitir que parte do experimento fosse feito em seu apiário (Apiário JM).

Aos amigos que fiz no PADETEC, Francisco, Rafael, Stefânia, Erijamerson, Alex Nasson, Alex Freitas. Agradecimento especial à Raffaella Castro, Michelle Guimarães pela sincera amizade, apoio e incentivo nos momentos em que mais precisei para realização deste trabalho.

À FUNCAP, pela concessão da bolsa de estudos que me possibilitou conduzir a pesquisa durante o curso de mestrado.

Ao Laboratório de Abelhas da Universidade Federal do Ceará e ao Dr. Francisco Deoclécio Guerra Paulino, responsável pelo Apiário, pela prestatividade.

Ao Grupo de Pesquisa com Abelhas da UFC e a todos seus integrantes, especialmente Patrícia Barreto de Andrade, Igor Torres, Francisca Lígia Aurélio Mesquita, Rômulo Rizzardo, Isac Gabriel Bomfim, Marcelo Milfont e Wilson Lima-Verda.

À Francisca Prudêncio Bezerra, secretária da Coordenação do Curso de Pós-graduação em Zootecnia, pela atenção sempre que foi preciso e por sua amizade.

À Profa. Dra. Mirele Vasconcelos e Joanna Rocha pelo apoio e estímulo para obtenção do diploma de mestre na UFC.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo estudar o potencial do Ceará para a produção de própolis avaliando a produção média de própolis em três fisionomias da Caatinga (Caucaia, Maranguape, Limoeiro do Norte), o teor de flavonóides; verificando diferenças entre as própolis produzidas nas três fitofisionomias fisionomias da Caatinga, e a utilização de um novo método para a extração de cera com Nafta. O experimento foi conduzido no período de agosto de 2008 a julho de 2009, no PADETEC (Parque de Desenvolvimento Tecnológico), na Universidade Federal do Ceará. Foram colocados dez coletores de própolis em colméias escolhidas ao acaso em cada apiário das três regiões. O experimento foi implantado em agosto de 2008 e as amostras coletadas nos três meses seguintes a este. Os resultados mostraram que as amostras de própolis obtidas de Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte através de coletas realizadas a partir de dez colméias em cada um dos três apiários durante os meses de setembro, outubro e novembro diferenciam com relação aos seus aspectos físicos como cor, cheiro, consistência e quantidade. O apiário localizado em Limoeiro do Norte apresentou uma maior produção de própolis em todas as coletas realizadas ($p < 0,01$). Com relação a percentagem de cera existente nas amostras de própolis, não diferiu com significância ($p > 0,05$) as amostras obtidas de Caucaia e Maranguape, onde esse valor foi significativamente diferente ($p < 0,01$) superior ao apresentado nas amostras coletadas em Limoeiro do Norte. Para percentagem de resíduo seco, Limoeiro do Norte mostrou ter um maior valor ($p < 0,05$) que as outras duas regiões estudadas. Para o teor de flavonóides, as amostras coletadas em Limoeiro do Norte diferiu estatisticamente ($p < 0,01$) em relação às outras duas regiões que não diferiram entre si ($p > 0,05$).

Palavras-chave: cera; nafta; própolis; resíduo seco; teor de flavonóides.

ABSTRACT

This work aimed to study the potential of Ceará for the production of propolis evaluated the average production of propolis on three faces of the Caatinga (Caucaia, Maranguape and Limoeiro do Norte), the content of flavonoids, noting differences between propolis produced in three Caatinga vegetation types of faces, and using a new method for extracting wax with NAFTA. The experiment was conducted from August 2008 to July 2009, at PADETEC (Park Technology Development) at the Federal University of Ceará. Ten were placed in beehives propolis collectors randomly selected in each apiary of the three areas. The experiment was established in August 2008 and samples collected in the three months following this. The results showed that the propolis samples obtained from Caucaia Maranguape and Limoeiro do Norte through collections made from ten hives in each of the three apiaries during the months of September, October and November differed with respect to its physical aspects such as color, smell, consistency and quantity. The apiary located in Limoeiro do Norte had a higher production of propolis in all sampling points ($p < 0.01$). Regarding the percentage of wax exists in samples, propolis did not differ with statistical significance ($p > 0.05$) samples from Caucaia and Maranguape, where this value was significantly different ($p < 0.01$) higher than the samples collected in in Limoeiro do Norte. For the percentage of dry material, Limoeiro do Norte has shown a higher value ($p < 0.05$) than the other two regions. For the flavonoid content, the samples collected in Limoeiro do Norte differed statistically ($p < 0.01$) than the other two regions did not differ ($p > 0.05$).

Keywords: wax; nafta; propolis; dry matter; content of flavonoids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Desenho esquemático da coleta e utilização da própolis pelas abelhas.....	30
Figura 2	– Troca das melgueiras comuns por melgueiras contendo coletores de própolis em um apiário localizado em Caucaia.....	38
Figura 3	– Mapa de Caucaia no estado do Ceará.....	39
Figura 4	– Mapa de Maranguape no estado do Ceará.....	40
Figura 5	– Mapa de Limoeiro do Norte no estado do Ceará.....	41
Figura 6	– Primeira coleta realizada em Maranguape-CE.....	42
Figura 7	– Amostras de própolis em aparelhos Soxhlet para extração da cera.....	43
Figura 8	– Processo de extração de cera.....	43
Figura 9	– Processo de evaporação de Nafta para obtenção de cera purificada.....	44
Figura 10	– Tipos de cera e resíduo seco obtidos através da extração realizada nas amostras de própolis de Caucaia-CE.....	47
Figura 11	– Tipos de cera e resíduo seco obtidos através da extração realizada nas amostras de própolis de Maranguape-CE.....	47
Figura 12	– Tipos de cera e resíduo seco obtidos através da extração realizada nas amostras de própolis de Limoeiro do Norte-CE.....	48
Figura 13	– Curva de absorbância de quercetina.....	49
Figura 14	– GCMS Sample Information de uma cera proveniente de Caucaia-CE.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Classificação das própolis brasileiras de abelhas <i>Apis mellifera</i> segundo Yong Park e colaboradores.....	17
Tabela 2	– Peso de própolis (PESOP), percentual de cera (PERCP), de resíduo seco (PERCRES) e concentração de flavonoides (FLAVO) nas amostras dos três apiários em estudo.....	49
Tabela 3	– Peso de cada própolis coletada em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte, nos meses de setembro, outubro e novembro.....	50
Tabela 4	– Percentagem de cera na própolis coletada em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte, nos meses de setembro, outubro e novembro.....	51
Tabela 5	– Percentagem de resíduos insolúveis na própolis coletada em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte, nos meses de setembro, outubro e novembro.....	54
Tabela 6	– Teor de flavonoides dos resíduos insolúveis das amostras de própolis coletadas em dez colméias localizadas em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte, nos meses de setembro, outubro e novembro.....	55
Tabela 7	– Concentração de flavonoides nas amostras de própolis coletadas em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte, nos meses de setembro, outubro e novembro.....	56

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivos gerais	13
2.2	Objetivos específicos	13
3	REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1	Própolis	14
3.1.1	<i>Referência Histórica</i>	15
3.1.2	<i>Importância Econômica</i>	17
3.1.3	<i>Características</i>	19
3.1.3.1	<i>Própolis verde</i>	20
3.1.3.2	<i>Própolis vermelha</i>	21
3.2	Composição Química	21
3.2.1	<i>Propriedades</i>	23
3.2.2	<i>Flavonoides</i>	25
3.3	Aplicações	26
3.4	Utilização da própolis na alimentação animal	28
3.5	Resinas	29
3.6	Coletas de própolis	29
3.6.1	<i>Métodos de coleta</i>	31
3.7	Fontes florais (origem botânica)	32
3.8	Métodos de extração	34
3.9	Instrução Normativa	36
4	MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1	Localização do Experimento	39
4.2	Características dos locais de coleta	39
4.3	Coleta das amostras	42
4.4	Separação da cera dos resíduos não-solúveis em Nafta	42

4.5	Acetilação e transesterificação da cera.....	44
4.6	Teor de flavonoides totais.....	45
4.7	Análise estatística.....	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
5.1	Peso da própolis.....	50
5.2	Cera	51
5.3	Resíduo seco.....	53
5.4	Teor de Flavonoides.....	54
6	CONCLUSÕES.....	59
	REFERÊNCIAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

Embora a apicultura mundial ainda esteja bastante direcionada para a produção de mel, outros produtos apícolas vêm ganhando espaço no mercado graças ao interesse despertado por suas propriedades medicinais e farmacêuticas descobertas pela comunidade científica (Mizrahi; Lensky, 1997).

Nos últimos anos tem sido constatado um grande incremento do número de apicultores e colméias, aproveitando da rica e variada flora apícola (Manrique; Soares, 2002a) e dos diversos produtos elaborados por estas. Os produtos derivados das abelhas, como mel, própolis, geleia real e apitoxina, têm sido amplamente estudados por suas aplicações em diferentes áreas da saúde e da indústria (Hellner *et al.*, 2008).

O mel é o principal produto da apicultura, principalmente nos estados do Nordeste brasileiro. Entretanto, nos últimos anos, a produção de própolis tem adquirido maior importância no agronegócio apícola, verificando-se aumento de demanda no mercado interno e significativa representação nas exportações do setor (Lopes, 2009). A produção de própolis pode ser vista como um incremento na rentabilidade da atividade apícola, pois não interfere na produção de mel, visto que pode ser explorada nas épocas em que a produção deste estiver em declínio, em determinadas épocas do ano (De Jager *et al.*, 2002).

O interesse científico pela própolis é recente e há a necessidade de muitos estudos a respeito de suas propriedades e aplicações. Apesar disto, o Brasil é hoje um dos maiores produtores e exportadores de própolis do mundo, devido à comprovada ação antioxidante com potencial anticâncer da própolis verde produzida a partir da planta *Baccharis dracunculifolia* DC, que cresce espontaneamente na região sudeste do país (Simões *et al.*, 2004). No Nordeste brasileiro, vem se destacando a própolis vermelha, onde é produzida em maior escala em Sergipe, Alagoas e Bahia; apesar de ainda a exploração apícola restringir-se à produção de mel, devido à total falta de informação sobre o potencial produtivo de própolis da flora local e suas propriedades (Alencar *et al.*, 2007).

Como se sabe menos ainda sobre a produção de própolis no estado do Ceará, de suas atividades biológicas e químicas ou seus constituintes, a presente pesquisa teve por objetivo comparar a produção média mensal de própolis de três regiões no estado do Ceará em um curto período do ano. Com o intuito de se ter uma noção de como se comporta essa produção nesses três lugares distintos, as quantidades de cera e de resíduo seco existentes nessas amostras, além do teor de flavonóides presente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar o potencial do Ceará para a produção de própolis.

2.2 Objetivos Específicos

- 1 - Avaliar a produção média de própolis em três fitofisionomias da Caatinga;
- 2 - Avaliar o teor de flavonóides;
- 3 - Verificar diferenças entre as própolis produzidas nas três fitofisionomias fisionomias da Caatinga;
- 4 - Verificar a utilização de um novo método para a extração de cera com Nafta.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Própolis

Ao longo da história, o homem aprendeu a utilizar os produtos naturais na medicina. Das várias formas de utilização destacam-se as plantas brutas (ex. ervas) além das tradicionais preparações galênicas (ex. extratos). Um dos muitos produtos naturais utilizados durante séculos pela humanidade tem sido a própolis, a qual é administrada sob diversas formas (Pereira *et al.*, 2002).

A palavra própolis deriva do grego *pro-* (para ou em defesa), e *polis-*(cidade), significando assim em defesa da cidade, nesse caso da colônia. É um nome genérico para o material resinoso recolhido pelas abelhas de várias plantas (Seeley, 2006).

A própolis é uma substância produzida pelas abelhas a partir de resinas vegetais, botões florais e brotos de determinadas árvores e arbustos e elaborada com acréscimo de suas secreções orais (salivares) como a enzima 13-glicosidase presente na sua saliva que hidrolisa os flavonóides glicosilados em flavonóides anglicanos entre outros, pólen e cera (Franco; Kurebayashi, 1996; Park *et al.*, 2002; Lima, 2006). De acordo com Salatino *et al.* (2005), as abelhas utilizam a própolis com uma série de propósitos, tais como na construção e adaptação da colméia, vedação de frestas, redução da entrada do alvado em colméias racionais, desinfecção dos alvéolos e favos garantindo assim um ambiente asséptico, no embalsamamento de animais mortos dentro do ninho, na defesa contra inimigos, etc. Dentre as abelhas que fazem uso de própolis, o gênero *Apis* é muito eficiente na coleta de resinas e preparação da própolis, podendo-se coletar entre 100 a 300 gramas de própolis por colméia/ano (Pereira *et al.*, 2002).

A composição da própolis é variável qualitativa e quantitativamente dependendo da ecoflora de cada região onde é coletada, sendo, portanto, um reflexo direto da flora vegetal da qual se servem as abelhas (Burdock, 1998; Russo; Longo; Vanella, 2002). O gênero e/ou espécie da abelha também influi na qualidade da mesma (Park *et al.*, 1998). Além disso, fatores associados à técnica de extração, metodologia de condução de ensaios e época do ano em que foi produzida podem ter influência sobre o maior ou menor grau de atividade biológica (Bianchini; Bedendo, 1998).

3.1.1 Referência Histórica

A própolis vem sendo utilizada desde muito tempo na história da humanidade. Os persas, gregos, romanos e incas a utilizavam desde a antiguidade. No primeiro grande texto médico conhecido, o Papiro de Ebers, datado de aproximadamente 1.700 a.C., já se encontram registros do emprego da própolis na medicina egípcia, especialmente devido às suas propriedades antissépticas e cicatrizantes (Castaldo; Capasso, 2002). Além disso, era utilizado como um dos materiais para embalsamar os mortos ("cera negra") (Pereira; Seixas; Aquino Neto, 2002). Registros históricos indicam que, desde o século XVII, artesãos italianos aplicavam própolis como componente em vernizes para instrumentos de cordas, prática atribuída a nomes consagrados como *Stradivari* e *Amati* (Burdock, 1998). Paralelamente, na França, o termo "própolis" já era mencionado em obras literárias e textos gerais desde o século XVI, refletindo a antiga presença desse produto nas tradições culturais europeias (Ramos, 2007).

Na África do Sul, na guerra ao final do século XIX, foi amplamente utilizada devido às suas propriedades cicatrizantes e na segunda guerra mundial foi empregada em várias clínicas soviéticas (Pereira; Seixas; Aquino Neto, 2002). Durante a guerra Anglo-Boer, há mais de 90 anos, foi utilizada com vaselina na confecção de pomada aplicada em ferimentos de guerra, devido a suas propriedades cicatrizantes (Marcucci, 1996).

Na Grécia antiga e no mundo romano ela já era reconhecida por suas propriedades terapêuticas: pensadores como Hipócrates, Aristóteles, Dioscórides, Plínio e Galeno mencionaram o uso de resinas semelhantes à própolis como agentes medicinais empregados para cicatrizar feridas, reduzir inflamações e aliviar dores, inclusive sendo usado no alívio de síndromes pré-menstruais e cólicas, com relatos de tradições populares indicam que essas aplicações incluíam usos tanto internos quanto externos em diferentes contextos culturais (Castaldo; Capasso, 2002). Para médicos europeus dos séculos XVI em diante, particularmente russos e poloneses, a própolis encontrou emprego como antibacteriano, tuberculostático e agente dermatológico antieczematoso e antiacne, na odontologia era empregada no tratamento de abscessos e gengivas hemorrágicas, bem como nos casos de candidíases bucais e halitoses. A própolis também é encontrada nos receituários chineses antigos como medicamento ativo contra moléstias coronárias e hipertensão (supondo-se atividade hipolipidêmica) e disfunções hematológicas (Adelmann, 2005; Nothenberg, 1997).

A própolis começou a ser apreciada como meio para tratamento de problemas de saúde nos anos de 1950 e 1960 na ex-União Soviética e em países do leste da Europa, como

Bulgária, República Tcheca e Polônia. Nos países do oeste europeu, na América do Sul e do Norte e no Japão, a própolis não adquiriu popularidade até 1980. Na metade dos anos 80, tornou-se um importante produto na medicina alternativa e complementar. Hoje, o Japão é o principal importador de própolis, com preferência pela própolis brasileira (Salatino *et al.*, 2005). Em 1908, surgiu o primeiro trabalho científico sobre suas propriedades químicas e “composição”, indexado no *Chemical Abstracts* (referência nº 192). Na mesma revista, em 1968, o resumo da primeira patente utilizando a própolis (Romana, para a produção de loções para banho). Até meados de 2000, o número de trabalhos publicados citados no *Chemical Abstracts* totaliza 450, oriundos de 39 países (dos cinco continentes), além de 239 patentes. (Lustosa *et al.*, 2008).

Até meados da década de 80, o estudo da própolis se concentrava nos produtos obtidos nas regiões do hemisfério norte, principalmente no leste europeu, onde se encontra apenas uma variedade de própolis originária de uma planta denominada pópula (Dias, 2007).

A partir do final da década de 80 e início da década de 90 os estudos se concentraram nas própolis produzidas nas regiões tropicais, com maior ênfase no produto brasileiro, onde era utilizado apenas como medicação popular. Só a partir da década de 90 começaram a ser realizadas e/ou divulgadas, de forma mais ampla, pesquisas, onde foi verificado que a própolis brasileira possuía uma série de qualidades características que não ocorrem nas demais própolis (Bankova; Castro; Marcucci, 2000).

Segundo Lima (2006) um dos pioneiros nesse tipo de pesquisa foi Ernesto Ulrich Breyer que em 1981 demonstrou as propriedades terapêuticas da própolis e sua utilização como antibiótico natural, em seu livro “Abelhas e saúde”. Aga *et al.* (1994) foram uns dos primeiros a determinarem algumas propriedades biológicas nesse produto. Contudo ainda eram trabalhos não tão completos, pois não se sabia exatamente a origem da própolis dentro do território brasileiro.

Com o intuito de mapear os diferentes tipos de própolis produzidas no Brasil, a equipe coordenada pelo Prof. Dr. Yong K. Park realizou um trabalho onde foram coletadas amostras de própolis em algumas localidades brasileiras. A partir da análise qualitativa e quantitativa desses materiais, os autores propuseram uma classificação das própolis brasileiras baseada em seus perfis físico-químicos e associaram cada um desses perfis a propriedades biológicas específicas, configurando um estudo pioneiro na área (Park; Ikegaki; Alencar, 2000; Park; Alencar; Aguiar, 2002).

A Tabela 1 expõe a classificação de amostras de própolis, de acordo com sua coloração, de várias regiões do Brasil.

Tabela 1 - Classificação das própolis brasileiras de abelhas *Apis mellifera* segundo Yong Park e colaboradores.

Grupos	Extrato Etanólico de Própolis		
	Cor	Substâncias Solúveis (%)	Origem da Própolis
Grupo 1 (RS5)	Amarelo	63	Região Sul
Grupo 2 (RS1)	Castanho claro	57,5	"
Grupo 3 (PR7)	Castanho escuro	65	"
Grupo 4 (PR8)	Castanho claro	54,5	"
Grupo 5 (PR9)	Marrom esverdeado	58,7	"
Grupo 6 (BA11)	Marrom avermelhado	45,9	Região Nordeste
Grupo 7 (BA51)	Marrom esverdeado	43,8	"
Grupo 8 (PE5)	Castanho escuro	41,3	"
Grupo 9 (PE3)	Amarelo	46,7	"
Grupo 10 (CE3)	Amarelo escuro	24,1	"
Grupo 11 (PI1)	Amarelo	23,1	"
Grupo 12 (SP12)	Verde ou marrom esverdeado	61	Região Sudeste

Fonte: Park, Ikegaki, Alencar (2000).

Através desse estudo foi possível caracterizar doze grandes grupos em quase todo o território nacional e comprovar, que alguns tipos de própolis, possuem atividades biológicas surpreendentes, tais como: anticancerígena, antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana, anticariogênica e anti-HIV (Menezes, 2005).

Essa grande variedade de própolis pode ser atribuída a enorme diversidade de espécies vegetais, característica das diferentes regiões do Brasil, e ainda a influência da variedade genética da abelha rainha (Koo; Park, 1997).

3.1.2 Importância Econômica

A produção de própolis no Brasil é uma atividade bem desenvolvida, com inúmeras contribuições técnicas. A riqueza da flora, os inúmeros ecossistemas e a efetividade de alguns princípios ativos oferecem grandes possibilidades de utilização para a própolis brasileira. Embora sujeitos a flutuações do mercado, os cuidados com a produção e conservação do produto devem ser redobrados e há regulamentação para isso (Brasil, 2001). A pesquisa científica, e o significativo consumo tem demonstrado que o Brasil pode evoluir muito nessa área.

Segundo Lima (2006), existe um consenso em que o Brasil é o segundo maior produtor mundial, ficando atrás apenas da China, porém não existem estatísticas oficiais sobre o volume real produzido de própolis, o que é consumido aqui e o que é exportado, mas de acordo com Dias (2007), o Brasil produz anualmente cerca de 100 toneladas de própolis bruta. Segundo Lopes (2009), o Japão é o principal mercado importador da própolis brasileira, absorvendo cerca de 80% da produção.

No mercado interno, o valor pago ao produtor por quilo do produto corresponde ao valor de 25 quilos de mel, aproximadamente. Entre as regiões maiores produtoras de própolis no Brasil estão alguns estados da região Sudeste (Minas Gerais e São Paulo) e a região Sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) e, mais recentemente, a região Nordeste (Bahia e Piauí) (IBGE, 2009; Paulo Neto; Almeida Neto, 2006).

Minas Gerais produz 70% da própolis brasileira, o equivalente a 28 toneladas do total nacional de 40 toneladas/ano. O produto mineiro é considerado “o melhor do mundo”, graças à altitude e temperatura favoráveis, além da flora nativa que caracteriza o sabor dos produtos apícolas (Paraná, 2007). Não é à toa que esse estado seja o principal fornecedor de própolis para países como o Japão, onde o consumo dos produtos apícolas tem crescido, sendo o destino de 70% das exportações (Pereira; Seixas; Aquino Neto, 2002; Resende; Borges, 2008). Devido a sua extensa área agricultável e excelentes condições climáticas, Minas Gerais registra grande progresso na produção apícola. Aproximadamente 2.500 produtores criam abelhas em suas propriedades, num total de 206.610 colmeias povoadas. São 31 associações, congregando 1.130 apicultores, que tem sua maior concentração na Zona Metalúrgica, Zona da Mata e Sul de Minas (EMATER-MG, 2002).

Por apresentar alto valor agregado, a própolis pode ser uma alternativa de renda importante para o apicultor. Os preços variam de acordo com sua qualidade, origem botânica e mercado a que é destinada (Bahia, 2009b). A produção de própolis vermelha vem ganhando espaço entre os produtores do extremo sul baiano. Isso porque a lucratividade é superior aos demais derivados do mel. Na região, enquanto o quilo do mel é vendido a um determinado valor, a própolis é comercializada a um valor 140 vezes maior (Bahia, 2009a).

O desenvolvimento tecnológico envolvendo a própolis resultou em um crescimento do número de patentes ao longo do século XX, um período de intensa atividade inventiva. A primeira patente relacionada a esse produto foi registrada na Romênia em 1965 (Helfenberg, 1908) e, até o ano de 1999, contabilizavam-se aproximadamente 240 patentes depositadas em diferentes países, a maior parte dos depósitos era originária da antiga União Soviética e de seus países satélites (Pereira; Seixas; Aquino Neto, 2002). A partir do final da

década de 1980 observa-se uma mudança significativa nesse cenário, com forte protagonismo do Japão, país responsável por cerca de 43 % de todas as patentes relacionadas à própolis. A primeira patente japonesa data de 1987 e descreve a aplicação do produto no controle de odores, inaugurando uma nova fase de exploração tecnológica da própolis (Cho; Torii; Kanamori, 1988). Em contraste, a participação brasileira nesse campo foi tardia e limitada: a primeira somente foi registrada em 1995, voltada ao uso odontológico da própolis na prevenção de cáries e gengivites (Itice, 1996), esta sendo, inclusive, uma das aplicações mais estudadas do própolis no mundo (Pereira; Seixas; Aquino Neto, 2002).

No período posterior a 1999 e até o final da década de 2000, revisões científicas indicam que o número de patentes envolvendo própolis continuou a crescer, impulsionado principalmente pela expansão das pesquisas no Japão, na China e em outros países asiáticos, além do aumento do interesse por aplicações farmacêuticas, cosméticas e odontológicas. Apesar desse avanço, a participação brasileira permaneceu relativamente modesta até 2008, contrastando com a expressiva produção científica nacional sobre as propriedades biológicas da própolis, o que evidencia uma lacuna entre pesquisa acadêmica e proteção tecnológica (Pereira; Seixas; Aquino Neto, 2002; Marcucci, 2008).

3.1.3 Características

A própolis pode variar em suas características e qualidades farmacológicas de acordo com a região em que foi coletada, período do ano, a origem floral e com isso sua cor, consistência, aroma, quantidade de resina, quantidade de cera, características químicas, entre outras (Salatino *et al.*, 2005).

Sua coloração é dependente de sua procedência, podendo variar do marrom escuro passando a uma tonalidade esverdeada até o marrom avermelhado, dependendo de seu tipo e idade (Lustosa, 2008). Possui um odor característico que pode variar de uma amostra para outra. O ponto de fusão é variável entre 60 – 70°C sendo que pode atingir em alguns casos, até 100°C (Marcucci, 1996). O aroma pode até mesmo estar ausente, devido à evaporação dos princípios voláteis. (Dias, 2007).

É uma substância rígida a 15°C, apresenta boa consistência (dura), mas quebradiça quando fria e que se torna dúctil e torna-se maleável a partir dos 30°C, quando aquecida. Sua remoção da pele humana é difícil, pois parece interagir fortemente com óleos e proteínas da pele (Burdock, 1998). É solúvel em éter, etanol, amoníaco, acetona, tolueno e

tricloetileno. A parte insolúvel é constituída de matéria orgânica, tecidos vegetais, grãos de pólen e outros (Marcucci, 1996).

As própolis de maior destaque econômico no momento são a própolis verde, que é mais produzida no estado de Minas Gerais e mais recentemente, a própolis vermelha oriunda do litoral nordestino (Park; Alencar; Aguiar, 2002; Alencar *et al.*, 2007).

3.1.3.1 *Própolis verde*

A própolis conhecida como verde é produzida em escala no cerrado brasileiro, é apreciada mundialmente, principalmente pelos japoneses, por suas atividades biológicas apresentadas e por isso ficou conhecida como “*Green propolis*”. É considerada uma das variedades de maior valor econômico, sendo característico principalmente da região Sudeste, especialmente do estado de Minas Gerais, e apresenta coloração que varia do verde-amarronzado ao verde-escuro, além de aroma e composição química peculiares (Park; Alencar; Aguiar, 2002). Esta coloração, de acordo com Bastos (2001), está relacionada com a quantidade de fragmentos da planta *Baccharis dracunculifolia*, conhecida como alecrim-do-campo, presentes na própolis, que pode se tornar mais intensa de acordo com o número de fragmentos existentes. A presença dessa espécie vegetal nas proximidades das colmeias condiciona fortemente a produção da própolis verde, uma vez que *Apis mellifera* coleta preferencialmente suas resinas para a elaboração desse tipo de própolis (Park; Ikegaki; Alencar, 2000; Salatino *et al.*, 2005). Essa relação ecológica estreita é considerada um dos exemplos mais bem documentados de associação entre abelhas e plantas na determinação da origem botânica da própolis.

Sousa *et al.* (2007) estudando diferentes amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG) viram a importância das análises realizadas para determinação da qualidade das própolis. Para produção de própolis verde, as áreas de cerrado, nas quais ocorre *B. dracunculifolia* nativa, devem ser preservadas para garantir a produção de própolis de alto valor comercial. Esta planta é classificada como arbusto e ocorre principalmente em áreas degradadas. As abelhas utilizam como matéria-prima para a confecção da própolis, seus brotos jovens (gemas apicais) (Lima, 2006).

Apesar de *Baccharis dracunculifolia* ser a fonte botânica dominante da própolis verde brasileira, registros fitoquímicos indicaram que outras espécies vegetais, como *Araucaria angustifolia* e *Eucalyptus citriodora*, podem contribuir para a matriz resinosa

coletada pelas abelhas em certas regiões, sugerindo múltiplas fontes botânicas possíveis para própolis verde dependendo da flora local (Salatino *et al.*, 2005).

3.1.3.2 *Própolis vermelha*

A própolis vermelha é reportada como sendo típica de Cuba e da Venezuela, onde as origens botânicas foram identificadas como *Clusia nemorosa* (Clusiaceae) e *Clusia scrobiculata*, respectivamente (Trusheva *et al.*, 2006).

Na produção da própolis vermelha do nordeste, as abelhas fazem a coletam de diversas árvores e arbustos que ocorrem no litoral. Várias espécies apresentam esta seiva de cor vermelha intensa, como a gaiteira, o mangue e a maçaranduba. Entretanto, trabalhos laboratoriais indicam que a principal fonte dessa própolis é a aroeira da praia (Lima, 2006).

A própolis vermelha brasileira foi caracterizada como um tipo distinto de própolis cujas características químicas diferem de outros tipos brasileiros documentados anteriormente. Estudos fitoquímicos indicaram que, no Nordeste do Brasil, as abelhas coletam resinas avermelhadas a partir de *Dalbergia ecastophyllum* (Leguminosae), e essa origem botânica específica se reflete no perfil de compostos fenólicos — especialmente isoflavonoides — que marcam quimicamente a própolis vermelha como uma variedade única (Silva *et al.*, 2008).

3.2 Composição Química

De uma maneira geral, a composição da própolis inclui 55% de resinas e bálsamos, 5-10% de óleos essenciais, 30% de cera, 10% de pólen e metabólitos secundários, incluindo flavonóides, ácidos fenólico, além de micro elementos como cálcio, ferro, alumínio, manganês, cobre, estrôncio e quantidades pequenas de vitaminas B1, B2, B6, C e E. (Ghisalberti, 1979; Lustosa *et al.*, 2008).

Pelo menos 300 compostos foram identificados em diferentes amostras de própolis, com mais de 100 compostos em cada uma, incluindo: ésteres de ácidos fenólicos, flavonóides (flavonas, flavononas, flavonóis, dihidroflavonóis, chalconas), terpenos, β -esteróides, álcoois e aldeídos aromáticos, sesquiterpenos, naftalenos (Kosalec, 2005; Bankova, 2005; Ahn, 2007). Segundo Marcucci *et al.* (2001) e Menezes (2005) sua composição química não é estável, dependendo principalmente das características fitogeográficas encontradas nas proximidades das colméias.

A própolis é considerada uma das misturas mais heterogêneas encontradas em fontes naturais. O maior grupo de compostos isolados da própolis são os flavonóides, encontrados em todas as partes do reino vegetal, os quais junto com os ácidos carboxílicos, modificados são componentes estratégicos na própolis, pois são responsáveis pela bioatividade contra vários microorganismos patogênicos (Burdock, 1998).

A composição heterogênea da própolis engloba grupos químicos, como:

- a) hidrocarbonetos superiores (penta-, hexa-, nonacosanohexanos);
- b) álcoois (cinâmicos, fenetílico, prenílico, isobutenol, benzílico);
- c) ácidos alifáticos (acético, angélico, butírico, fumárico, isobutírico, metilbutírico) e ésteres derivados (acetatos de isobutila, isopentila e isopentelina);
- d) ácidos aromáticos (benzóico, cafeico, cinâmico, cumáricos (-o, -m, -p), ferúlico, gálico, salicílico, 3-4-dimetoxicinâmico, gentísico, hidroxicinâmico, isoferúlico, vanílico) e ésteres aromáticos derivados (acetato de benzila, benzoato de benzila, cafeato de benzila, cumarato de benzila, cafeato de fenil etila, ferulato de prenila, salicilato de benzila, cafeato de butenila, cafeato de butila, cafeato de cinamila, cafeato de butila, benzoato de etila, benzoato de metila, salicilato de metila; ésteres do ácido cafeico com álcoois graxos de cadeia longa - dodecanol, tetradecanol, tetradecenol, hexadecanol);
- e) ácidos graxos superiores típicos de ceras (araquídico, behênico, cerótico, lignocérico) e usuais (palmítico, oleico, láurico, mirístico) e seus ésteres (hexacosilhexadecanoato);
- f) aldeídos (benzaldeído, aldeído capróico, vanilina, isovanilina, p-hidroxibenzaldeído);
- g) cetonas (acetofenona e seus derivados);
- h) flavonas e flavonóis (acacetina, apigenina, apigenina-7-metil éster, risina, galangina, galangina-3-metil éster, quercetina, canferol, tectocrisina, canferid; 3,7,4',5'tetrametil éter da quercetina);
- i) flavanonas (naringenina, pinobanksina, pinobanksina-3-acetato, pinobanksina-3-butilato, pinobanksina-3-metil éter, pinocembrina, pinostrobina);
- j) chalconas e diidrochalconas (de alpinetina, naringenina, pinobanksina, pinobanksina-3-acetato, pinocembrina, pinostrobina);
- l) terpenóides (farnesol, geraniol, cimeno, limoneno, estireno, naftaleno, β -bisabolol, 1,8-cineol, derivados de clerodane, derivados do labdane, β -amirin, sesquiterpenóides, ledol, spatulenol, germacren);

- m) esteróides (acetatos de estigmasterol e calinasterol);
- n) aminoácidos (alanina, β -alanina, ácido α -aminobutírico, ácido- δ -aminobutírico, arginina, asparagina, ácido aspártico, cistina, cisteína, ácido glutâmico, glicina, histidina, hidroxiprolina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, ácido piroglutâmico, sarcosina, triptofano, valina, serina, treonina, tirosina);
- o) açúcares (d-ribofuranose, d-frutose, d-glucitol, d-glucose, talose, sacarose xilitol, xilose, galactose, manose, ácido galacturônico, lactose, maltose, melibiose, eritritol, inositol);
- p) lignanas (sesamina, aschantina, sesartenina, dihidrobenzofuran);
- q) vitaminas (A, B1, B2, B6, C e E);
- r) minerais (sódio, potássio, magnésio, bário, estrôncio, cádmio, chumbo, cobre, manganês, ferro, cálcio, vanádio, silício, alumínio, níquel, zinco, cromo, titânio, prata, molibdênio, cobalto). (Walker; Crane, 1987; Greenaway *et al.*, 1990; Marcucci, 1996; Fontana *et al.*, 2000; Bankova; Castro; Marcucci, 2000; Pereira; Seixas; Aquino Neto *et al.*, 2002).

No Brasil existe uma grande variedade na vegetação e, portanto, a composição química da própolis torna-se muito rica e é reconhecida no exterior como de ótima qualidade. É tida como incomum, com respeito às amostras do resto do mundo. Vários compostos foram encontrados em própolis brasileiras tais como: quantidades significantes de terpenóides (sesquiterpenóides), parte deles identificada pela primeira vez em amostras de própolis; ácidos triterpênicos, que também são componentes de oleoresinas, especialmente *Araucaria*, que cresce na região sul do Brasil, ácidos diterpênicos pela primeira vez isolados em amostras de própolis e álcool 10,11-di-*o*-acetil desidrodiconiferílico, uma lignina, que foi relatada pela primeira vez como existente em produtos naturais (Lima, 2006).

3.2.1 Propriedades

As propriedades biológicas da própolis estão diretamente ligadas a sua composição química e este possivelmente é o maior problema para o uso da própolis em fitoterapia. Isso porque sua composição química varia com a flora da região (brotos, cascas, galhos, exsudatos e menos importante, botões florais) e época da colheita, com a técnica empregada, assim como com a espécie da abelha (no Brasil também o grau de "africanização"

da *A. mellifera*, pode influenciar a sua composição), o que exerce um enorme impacto nas propriedades físicas, químicas e biológicas. Várias literaturas mostram a similaridade ou relacionam algumas substâncias naturais das plantas aos componentes encontrados na própolis. Somente no caso do Brasil, são descritas propriedades biológicas e composições químicas distintas para diferentes amostras coletadas em diferentes partes do país. Essa variação é facilmente explicada pela grande biodiversidade brasileira, assim como, até certo ponto, a habilidade bioquímica das abelhas em alterar a composição nativa ou adicionar componentes próprios à própolis (Pereira; Seixas; Aquino Neto, 2002).

Na literatura, pode-se encontrar relatos de diversas propriedades biológicas, como atividade antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante, anestésica, antitripanossomal, anticariogênica, antiviral e anticarcinogênica (Burdock, 1998; Castro; Higashi, 1995; Cunha *et al.*, 2004a; Duarte *et al.*, 2003; Ghisalberti, 1979; Ishikawa *et al.*, 2004; Kumazawa; Hamasaka; Nakayama, 2004; Marcucci *et al.*, 2001; Montpied *et al.*, 2003). Além disso, também vem sendo utilizada pelas indústrias farmacêutica e alimentícia na forma de alimentos funcionais (Ackermann, 1991).

Também foi descrita a ação sobre a regeneração óssea e cartilaginosa (Burdock, 1998), cardioprotetora (Chopra *et al.*, 1995; Cook; Samman, 1996), hepatoprotetora entre outros usos terapêuticos, testados *in vitro* e *in vivo* (Castro, 2001). Alguns trabalhos que detectaram a atividade antimutagênica da própolis (Čižmárik; Lahitová, 1998; Varanda *et al.*, 1999), sugeriram que esta ação poderia estar associada ao potencial antioxidante dos flavonóides presentes em sua composição química (Krol *et al.*, 1990; Volpert; Elstner, 1993 Pascual *et al.*, 1994; Said, 2000).

Para a própolis vermelha, coletada no estado de Pernambuco, através do bioensaio de letalidade em *Artemia salina*, sugeriu-se uma promissora atividade antitumoral a partir de seu conteúdo em compostos fenólicos confirmado (Nunes *et al.*, 2009). Evidenciou-se também que o extrato de própolis vermelha de Pernambuco desenvolveu atividade cicatrizante do ponto de vista de avaliação dos aspectos clínicos macroscópicos em relação ao padrão D-pantenol (Galindo, 2007).

Vargas *et al.* (2004) observou que o extrato alcóolico a 50% de própolis apresenta atividade antibacteriana “*in vitro*”, inibindo o crescimento de 67,70% das amostras de *Nocardia asteroides*, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Rhodococcus equi*, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa* avaliadas.

De acordo com Castro (2001), as atividades biológicas demonstradas pelo própolis estão ligadas à sua composição fenólica, dentre eles, os flavonoides.

3.2.2 Flavonóides

O termo flavonóide deriva do latim *flavus*, que significa amarelo. Os flavonóides, por serem pigmentos presentes em todas as células fotossintetizadoras, são encontrados em ervas, legumes, frutas, mel e por consequência dentre outros produtos de consumo cotidiano (Havsteen, 1983; Lopes *et al.*, 2000; Havsteen, 2002).

Segundo Park, Fukuda e Ashida (2004), flavonóide é um composto fenólico presente nos vegetais e, desde o início dos anos 1990, estuda-se mundialmente a sua eficácia no combate a um perigoso invasor do corpo humano: a dioxina, produzida na degradação de produtos contendo cloro, como plásticos e herbicidas.

“A dioxina contamina o solo, a água e os vegetais, sendo absorvida pelos animais. E, na ponta desta cadeia alimentar, invade as células humanas levando à formação de substâncias cancerígenas. Por isso, ganhou o nome de hormônio ambiental. Está associado a cânceres de pulmão, cérebro e próstata. ‘Dentro do corpo se produz o hormônio endócrino, que entra na célula denominada "receptor" e envia sinais ao núcleo, estimulando o gene a formar compostos necessários para nossa fisiologia. Estamos, então, sobrevivendo. O problema é que a dioxina ocupa o lugar por onde entraria o hormônio endócrino. A ingestão de flavonóides combate essa invasão, porque eles deslocam a dioxina do receptor, ocupando a mesma posição na célula” (YONG, 2003, local 23).

Na presença de flavonóides, a maioria das bactérias que acometem os homens e os animais é morta. Entretanto, esse mecanismo não é totalmente compreendido, mas é sabido que o efeito bactericida dos flavonóides é devido à perturbação metabólica. Os canais de íons, que são componentes tanto de células animais quanto bacterianas, são pontos sensíveis de inibição e provavelmente alvos de flavonóides. Nas células animais, esses canais são regulados por reações de fosforilação e desfosforilação (Cushnie; Lamb, 2005). A pesquisa para o uso dos flavonóides para prevenção e cura de doenças já está sendo realizada por vários pesquisadores em alguns países. O uso consciente dessas substâncias é mais comum nos países emergentes do que nas partes industrializadas do mundo (Farnesi, 2007).

Há grande controvérsia em relação ao teor de flavonóides nas amostras brasileiras (Pereira; Seixas; Aquino Neto, 2002). Bankova *et al.* (1995) concluíram que as própolis brasileiras têm uma baixa concentração de flavonóides e ésteres de ácidos fenólicos, possuindo altas concentrações de ácido dihidroxicinâmico, acetofenonas preniladas e alguns terpenóides específicos. Ainda, Bankova, Castro e Marcucci (2000) citam que, em alguns casos, os flavonóides são, sim, importantes componentes presentes na própolis brasileira. Aga

et al. (1994) determina os compostos prenilados como os maiores constituintes da própolis brasileira, e relata que a atividade antibacteriana destes compostos pode ser aumentada com o aumento do número de resíduos prenil na molécula, como citado por Marcucci *et al.* (2001).

Diversos ensaios *in vitro* e *in vivo* vêm comprovando e determinando as atividades biológicas dos flavonóides. Destacam-se, dentre outros, a capacidade antioxidante, antiinflamatória e de efeito vasodilatador, ação antialérgica, anti-tumoral, hepatoprotetora, antiúlcera, ações anti-plaquetária, bem como ações antimicrobianas e antivirais (Lopes *et al.*, 2000).

A concentração de flavonóides totais nas amostras de própolis pode ser determinada pela complexação dos flavonóides presentes na mesma com o cátion alumínio, formando complexos estáveis. Na análise espectrofotométrica, este complexo fornece um desvio das bandas características dos flavonóides para maiores comprimentos de onda (efeito batocrômico) e uma intensificação da absorção (Adelmann, 2005).

3.3 Aplicações

Segundo Pereira, Seixas e Aquino Neto *et al.* (2002), a grande questão para o futuro é responder a uma pergunta antiga: Qual própolis serve para qual ação terapêutica? E para isso é necessário definir quais parâmetros terapêuticos mínimos as diferentes própolis devem possuir, ou idealmente qual composição química mínima deveria ser exigida para que apresentem as propriedades farmacológicas desejadas. No caso da própolis européia, a padronização de seu uso como “fitoterápico” é mais simples já que o principal parâmetro que rege sua atividade é o teor de flavonóides. Portanto, determinando o teor de flavonóides e contaminantes (como metais pesados) seria possível classificar a qualidade da própolis (Bankova, 2005).

A importância conferida a esse produto reside no fato de possuir diversas propriedades terapêuticas, tais como atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, cicatrizante, anestésica, anticariogênico, antitumorais e citotóxicas sendo um insumo de primeiro nível para as indústrias de alimentos, fármacos e cosméticos (Castro, 2001).

As últimas pesquisas científicas realizadas nos Estados Unidos, Europa, Japão e Brasil, têm demonstrado que a própolis tem a capacidade de regenerar tecidos, inibir o crescimento de tumores, inibir a duplicação de células infectadas pelo vírus da AIDS, bloquear a atividade da enzima responsável pela formação da placa dentária que resulta em cárie, ativar o sistema imunológico e retardar o envelhecimento. (Dias, 2007).

Alguns pesquisadores encontraram atividade antioxidante da própolis em ratos. Após a aplicação de própolis, Sforcin, Funari e Novelli (1995) não obtiveram alterações bioquímicas dos componentes de significado clínico para a verificação de alterações patológicas, demonstrando também que o nível sérico da amilase e da alanina aminotransferase apresentaram-se normais, sugerindo a ausência de efeitos prejudiciais ao pâncreas e fígado, respectivamente.

A amostra de própolis estudada por Pinto *et al.* (2001) exerceu efeito antibacteriano através dos extratos etanólicos e, em menor proporção, do metanólico, sobre o *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp.* Coagulase negativos, e *Streptococcus agalactiae*, mas não mostrou capacidade em inibir o crescimento das amostras Gram-negativas, nas concentrações utilizadas. Os extratos aquosos, acetato de etila e clorofórmio não apresentaram efeito antibacteriano sobre as amostras bacterianas estudadas. Amostras diferentes, de uma mesma espécie bacteriana, diferiram quanto à sensibilidade à própolis.

Em animais domésticos, a própolis também tem demonstrado resultados satisfatórios, tanto na prevenção, como no tratamento de doenças. A utilização da própolis e álcool etílico no controle de *Salmonella* em rações avícolas apresentou resultados parciais, sendo observados efeitos bactericidas nos sorotipos *S.typhimurium* e *S.enterendis*, que foram inoculados artificialmente na ração (Mazzuco *et al.*, 1996). Em coelhos, a solução hidroalcoólica de própolis, adicionada à água de beber, diminui a ocorrência de verminose (Moura *et al.*, 1998). Em tratamento de sarna sarcóptica nessa espécie foi verificada a eficiência do extrato de própolis, assim como na prevenção da doença (Carvalho *et al.*, 2003). Resultados positivos também foram observados por Silva Sobrinho *et al.* (2004) no tratamento curativo da pododermatite necrótica em ovinos, comprovando suas propriedades anti-séptica, antimicótica, bacteriostática, antiinflamatória e anestésica. Na bovinocultura, a própolis foi utilizada também em bactérias isoladas do leite de vacas com mastite, comprovando eficientes resultados (Pinto *et al.*, 2001).

Todo este poder advém da enorme quantidade de componentes ativos da própolis, que exibe um verdadeiro complexo de vitaminas, minerais e enzimas, mas o maior destaque é a combinação única de bioflavonóides em quantidade exponencial contida na própolis. (Dias, 2007). Além disso, por ser um produto natural, extraído diretamente da natureza, isso é, uma tecnologia biológica, pode vir a diminuir a utilização de produtos quimioterápicos que podem trazer consequências indesejáveis aos consumidores, animais e ao meio ambiente (Bankova, 2005).

3.4 Utilização da própolis na alimentação animal

A própolis adicionada na forma de extrato na alimentação de animais como suplemento mostra bons resultados, como foi visto por Garcia *et al.* (2004), que adicionaram própolis à ração (0,1% de Extrato Seco de Própolis) que demonstrou-se efetiva sobre o desempenho dos animais, tendo melhorado o ganho de peso das coelhas e sua conversão alimentar. Coloni *et al.* (2007) observaram que a adição de extrato etanólico de própolis resultou em ganho de peso, parâmetros de carcaça e pH cecal dos coelhos semelhantes aos que receberam as dietas com o álcool etílico e sem nenhum aditivo. Entretanto, os coelhos que receberam o Extrato Etanólico de Própolis apresentaram maiores pesos das patas e os que nenhum aditivo receberam apresentaram maiores pesos do aparelho gástrico. No entanto, de acordo com Ito *et al.* (2009), o extrato de própolis em altas concentrações na ração faz com que a palatabilidade seja afetada negativamente, isso é mostrado a partir de um menor consumo desse alimento pelos animais.

Já Dierckx e Funari (1999), utilizando a própolis como aditivo na alimentação de leitões desmamados e na prevenção à diarreia, concluíram que as rações com própolis não diferiram daquela sem nenhum tipo de tratamento (controle negativo) e nem a da com promotor de crescimento e coccidiostático (controle positivo), para os parâmetros de ganho de peso, consumo de ração, e conversão alimentar, mesmo independente do tipo de diarreia, e que o número de animais com ou sem diarreia não diferiram entre os tratamentos.

Casimiro (2008), utilizando extratos hidroalcoólicos de própolis em rações para bezerras lactentes, observou que essas mostraram-se capazes de proporcionar o mesmo desempenho e digestibilidade total de dietas para bezerras lactentes em substituição à lasalocida sódica.

Ao testar a própolis como novo aditivo na nutrição de ruminantes, Stradiotti Junior *et al.* (2004) observaram que o extrato desse produto das abelhas foi eficiente em inibir a produção de gases *in vitro* pelos microrganismos ruminais. Somando-se ao fato de que a mesma possibilitou aumento da taxa de digestão específica dos carboidratos, conclui-se que devem ser realizadas novas pesquisas que explorem.

Oliveira *et al.* (2004) ao testarem o efeito do ionóforo monensina, um antibiótico, e do extrato de própolis sobre a produção de amônia e degradabilidade *in vitro* da proteína bruta de diferentes fontes de nitrogênio observaram que a própolis foi mais eficiente que a monensina em manter maiores concentrações de proteína solúvel no início das incubações,

pela redução da atividade de desaminação e que esta não diferiu da monoenzima em relação a reduzir a produção de amônia de fontes de proteína de maior degradabilidade.

3.5 Resina

As resinas são misturas complexas de terpenos, flavonóides e substâncias gordurosas e sua produção está ligada ao crescimento vegetativo das plantas, que é promovido por um hormônio, a giberelina, que é um terpenóide. Resinas em grandes quantidades são secretadas pelas plantas durante o crescimento de ápices vegetativos de folhas, caules ou troncos, antes da floração (Bastos, 1998), razão pela qual nem sempre o grão de pólen encontrado na própolis indica a espécie vegetal visitada para a coleta de resina. Outra questão é que sabe-se que algumas fontes de resinas só ocorrem em determinados períodos do ano, podendo não ocorrer em períodos ou anos subsequentes. Essa é uma das grandes dificuldades em se manter o mesmo tipo de produto (Dias, 2007).

Os recursos vegetais utilizados pelas abelhas para a produção de própolis originam-se de diversos processos botânicos em diferentes estruturas das plantas. Tais componentes abrangem desde secreções ativas e exsudatos resultantes de injúrias mecânicas até materiais lipofílicos presentes em folhas e brotos, mucilagens, gomas, resinas e látex (Bankova; Castro; Marcucci, 2000). Adicionalmente, a composição da própolis pode incluir elementos introduzidos pelas abelhas durante o processo de elaboração no interior da colmeia (Marcucci, 1996).

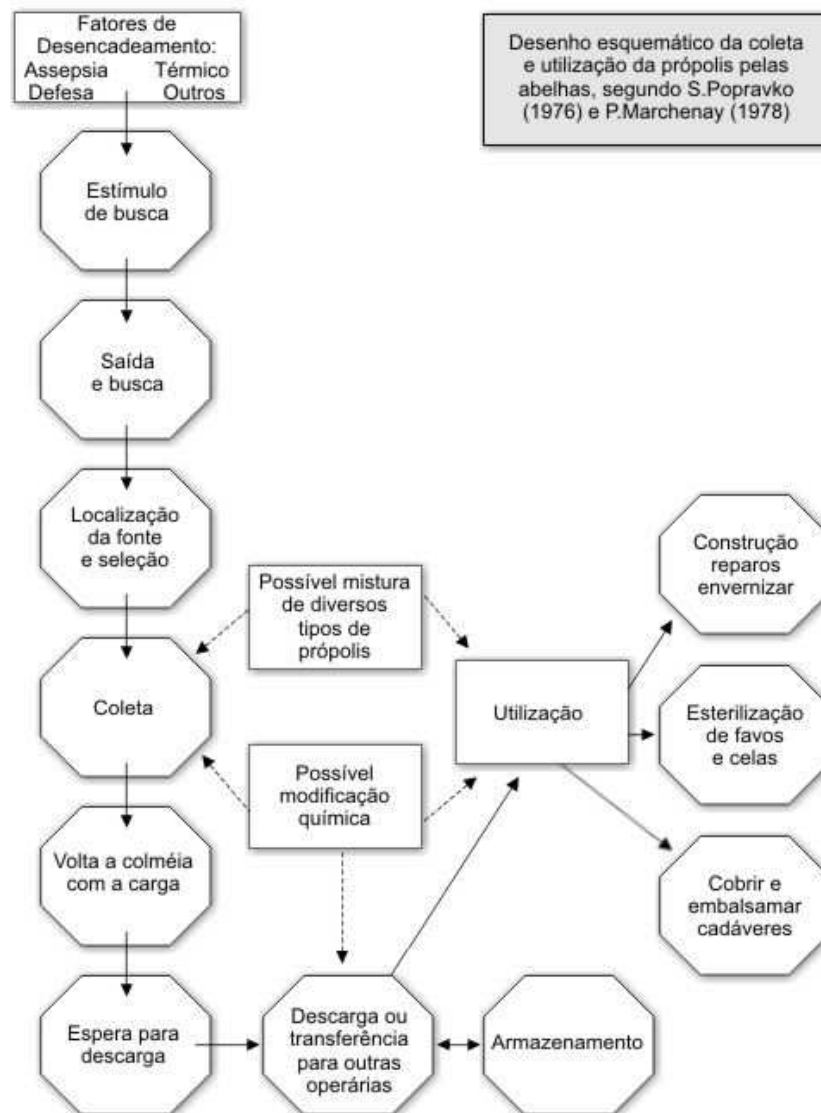
Algumas plantas fornecedoras de resina, segundo a observação de Robson Raad, seriam o óleo-pardo (*Myrocarpus frondosus*) e a cabreúva (*Myroxylon peruiferum*) dos quais as abelhas coletam o material liberado no tronco e galhos da árvore e o jatobá (*Hymenaea stilbocarpa*) que também libera resina. (Lima, 2006).

3.6 Coletas de própolis

Os vegetais, no estágio de brotos, estão vulneráveis a microorganismos e insetos e, para se proteger, produzem enzimas que funcionam como anticorpos nos humanos (Yong, 2003). As abelhas aprenderam que esse material que protege os vegetais era importante para fechar a parte externa de suas colméias. Nas épocas do ano em que há uma boa colheita de néctar, as abelhas dedicam-se geralmente mais à colheita do mesmo e menos à colheita de resinas (própolis), produzindo mais própolis no fim das colheitas de néctar. As abelhas

coletoras de própolis de uma família dedicam-se a esta atividade nas horas quentes do dia, pois nestas horas, a própolis torna-se mais fácil para manuseio pelas abelhas (Breyer, 1980). Já Wiese (2005) afirma que a melhor época para se coletar própolis é antes do período chuvoso, que é quando a colméia necessita defender-se mais contra os predadores. A Figura 1 ilustra de maneira clara a coleta e utilização de própolis pelas abelhas.

Figura 1 - Desenho esquemático da coleta e utilização da própolis pelas abelhas.



Fonte: Adelmann (2005, p.10).

Poucas abelhas coletam resinas para produzir própolis, pouco menos de 3% das campeiras. Quando ocorre uma grande florada, as abelhas dedicam pouco tempo e esforço na coleta de resinas, dedicando-se principalmente a coletar néctar e produzir mel. O desgaste das

abelhas que produzem própolis é muito alto e elas devem ser alimentadas ou ter muito néctar à disposição, para produzir adequadamente (Manrique; Soares, 2002a).

Manrique e Soares (2002b) observaram um padrão de produção atípico, onde a produção variou de acordo com a vegetação presente, no qual colônias com mais abelhas, produziram mais própolis onde existia uma maior diversidade de vegetação, e onde havia pouca variedade de plantas, as colônias com menor população produziram mais própolis. Foi observado, também, que as abelhas caucasianas e os híbridos africanizados têm maior capacidade genética para coletar própolis. Foi visto que poucas colônias coletaram própolis (menos de 50%) no coletor utilizado, o qual poderia sugerir diferenças genéticas, embora todas as colônias fossem de híbridos africanizados.

Segundo Santos *et al.* (1996), as abelhas africanizadas, apresentam um maior número de forrageamento de coletas de própolis entre 10 e 14 horas, nos horários mais quentes do dia; mencionam ainda que temperaturas abaixo de 21°C e acima de 28°C parecem inibir este comportamento. Ghisalberti (1979) afirma que uma colônia forte coleta 150-200 gramas de própolis num ano. Segundo Gojmerac (1980) a abelha utiliza suas mandíbulas e suas pernas transferindo o material coletado para as corbículas, sendo que algumas vezes adicionam cera no momento da manipulação. Esta operação pode durar de 15 a 60 minutos.

Nas zonas temperadas do hemisfério norte, as abelhas coletam a própolis apenas no verão (incluindo final da primavera e começo do outono - cerca de quatro meses) e por isso as variações sazonais na composição da própolis são insignificantes. No Brasil, entretanto, a coleta de própolis se dá durante todo o ano, deste modo existe uma variação sazonal na sua composição. A diminuição em alguns componentes biologicamente ativos como os fenólicos são acompanhados pelo aumento de outros, por exemplo, ácidos diterpênicos. Deste modo pode-se esperar que algumas atividades biológicas, relacionadas a estes compostos, (antibacteriana, antifúngica) sejam similares em diferentes estações do ano (Bankova *et al.*, 1998). Isto foi comprovado por Sforcin *et al.* (2000) que demonstraram não existir diferença estatisticamente significativa na atividade antimicrobiana da própolis coletada nas quatro estações do ano frente às cepas.

3.6.1 Métodos de coleta

Quando aparece alguma fresta ou rachadura na colméia, as abelhas operárias vedam imediatamente essa abertura indesejada com própolis para proteger sua colônia contra entrada de algo indesejável, como vento, água ou ainda seus inimigos (Burdock, 1998; Crane,

1988; Ghisalberti, 1979). A partir do momento em que os apicultores observaram esse comportamento, sabendo que este produto é muito bom para o homem, começaram a pensar em uma maneira de fazer com que esse material fosse produzido em maior quantidade por estes insetos, realizando brechas nas colméias para que as abelhas vedassem com o própolis que seria coletado posteriormente (Wiese, 2005).

No entanto, ao começarem a raspar a própolis depositada nas paredes da colméia e comercializar, observaram que o valor comercial desse material era baixo, pois era de má qualidade. Junto ao produto vinham também pedaços de madeiras, além de outros fragmentos não identificados, o que fazia com que sua aparência não ficasse muito agradável. Com isso foi cada vez mais se aperfeiçoando em uma nova maneira de se obter própolis a partir das colméias (Bankova; Castro; Marcucci, 2000; Marcucci, 1995).

Os apicultores coletam própolis de diversas maneiras, pelo método da raspagem, com a utilização da tela plástica, através do coletor de própolis inteligente (CPI), do coletor pirassununga ou de estojo, sistema de sarrafos, método das asas ou E.G.P.P. (Elias Green Plate Propolis) (Breyer, 1995; Krell, 1996).

O método da raspagem é realizado utilizando o formão ou uma faca para retirar a própolis grudada nas colméias e quadros que as abelhas operárias deixam em razão de alguma abertura que porventura apareça. Esse método é facilmente efetuado em temperaturas mais baixas, pois em tempo quente a resina aglutina-se e torna-se pegajosa (Marcucci, 1996). Porém, Inoue *et al.* (2007) viu que a produção de própolis não foi influenciada pelo tipo de coletor utilizado (Coletor de Própolis Inteligente, Tela Plástica e a Raspa) e o que influencia é a sazonalidade.

Thimann e Manrique (2002), observando a coleta de própolis em colônias de abelhas africanizadas durante a estação chuvosa em Guanare, na Venezuela, viram que, apesar do dimensionamento das colméias para obtenção de própolis ser uma possibilidade para se obter este produto no momento da colheita, a adição de quadros coletores de colméias africanizadas não foi eficiente em nenhuma das condições das colônias estudadas (fraco, médio e forte).

3.7 Fontes florais (origem botânica)

Embora os poucos resultados obtidos até o momento no Brasil sejam apenas observações casuais de apicultores, os centros de pesquisa começam a se empenhar em identificar as fontes que são os recursos para a produção de própolis pelas abelhas. Usando

aparelhos muito sofisticados, os pesquisadores têm meios de comparar a própolis e os vegetais de uma região, e chegar à conclusão de que ambos possuem elementos semelhantes (Lima, 2006).

Park *et al.* (2002) afirmaram que a análise da sua composição química comparada com a provável fonte vegetal é o melhor indicativo da origem botânica da própolis. A determinação da origem geográfica e, principalmente, a origem vegetal, aliada à fenologia da planta fornecedora da resina, se faz importante no controle de qualidade e até mesmo na padronização das amostras de própolis para uma efetiva aplicação terapêutica.

É de grande importância saber de que região aquela determinada própolis é proveniente, pois, dependendo de cada região, esse produto poderá conter propriedades biológicas diferentes em composição ou mesmo em quantidade de determinada ação terapêutica. Como exemplo, Koo *et al.* (1999) verificaram que a própolis do Rio Grande do Sul foi mais eficiente que a de Minas Gerais no potencial anticâncer e antiplaca quando testado em ratos.

Durante as visitas aos vegetais para coletar a matéria-prima necessária na elaboração da própolis, as abelhas carregam fragmentos de folhas, tricomas glandulares e tectores, cristais de oxalato de cálcio, discos secretores e grãos de pólen que podem ser encontradas na própolis e servem como marcadores botânicos para a indicação das espécies visitadas pelas abelhas através de testes histoquímicos, técnicas de microscopia óptica e eletrônica de varredura (Bastos, 2001).

Barth, Dutra e Justos (1999) comprovaram que as análises qualitativas e quantitativas dos tipos polínicos encontrados em amostras de própolis são instrumentos utilizáveis para a caracterização geográfica de sua procedência, bem como da origem florística e, em alguns casos, estacional.

De acordo com Park *et al.* (2002), a região sul do país apresenta uma grande diversidade vegetal, para a retirada de resinas pelas abelhas, possibilitando a ocorrência de 5 grupos distintos de própolis de grande frequência, e dentre estes grupos foi possível identificar a origem vegetal de um. Ficou comprovado que a origem botânica da própolis deste grupo, da Argentina e do Uruguai, é a espécie vegetal *P. Alba*, segundo os perfis fitoquímicos comparativos. Park *et al.* (2000) classificaram as própolis brasileiras em 12 grupos e verificaram a existência de somente um tipo majoritário de própolis na região Sudeste do Brasil. Nesse estudo, os autores demonstraram a pouca diversidade vegetal dessa região para a retirada de resina pelas abelhas.

Segundo Alencar *et al.* (2005), os estados de Minas Gerais e São Paulo possuem somente um tipo majoritário de própolis, indicando assim que poucas são as espécies vegetais fornecedoras de resinas para elaboração de própolis. Pelo grande número de compostos identificados e confirmados pelas técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa com espectrometria de massas, pode-se concluir que a resina da espécie vegetal de *B. dracunculifolia* é a principal fonte de resina para a elaboração das própolis produzidas nesses estados. Outros autores sugerem que as fontes prováveis para a própolis brasileira podem ser principalmente *Baccharis* spp. e *Araucaria* sp. (Bankova *et al.*, 1998; Banskota *et al.*, 1998), mas nenhuma comparação direta entre a própolis e a fonte botânica foi realizada (Bankova; Castro; Marcucci, 2000).

A fonte dominante para a elaboração da própolis na Europa, América do Norte e oeste da Ásia é o exsudato do botão de álamo (*Populus* sp.) (Markham *et al.*, 1996; Wollenweber; Buchmann, 1997). Entretanto, na América do Sul, a espécie vegetal do gênero *Populus* não é nativa, existindo uma grande diversidade vegetal para a retirada de resina, o que dificulta a correlação da própolis com a fonte produtora. A dependência geográfica e vegetal da própolis é exemplificada nos trabalhos, como por exemplo, de própolis da América do Sul, Europa, China, Canadá e Espanha (Bonvehi; Coll, 1994; Park; Fukuda; Ashida, 2004).

A subespécie da abelha também tem determinada influência na composição quantitativa da própolis, porém o critério de escolha da fonte botânica pelas abelhas permanece incerto (Bankova *et al.*, 1998).

3.8 Métodos de extração

Várias técnicas de extração têm sido empregadas visando concentrar os resíduos insolúveis de própolis. Uma mistura em partes iguais de etanol, clorofórmio e acetona demonstrou bons resultados (D'albore, 1979). Já Warakomska e Maciejewicz (1992) testaram etanol, benzeno e acetona em extração sequencial. Grande quantidade de pêlos vegetais (tricomias) é encontrada após a extração de cera e resina nas amostras de própolis, por isso estão começando a utilizar Nafta, que é um solvente extraído do petróleo.

Na literatura, encontra-se descrição de diversos procedimentos de extração. Pascual *et al.* (1994) utilizaram etanol a 95% para testar a atividade antioxidante de 1 g de amostra triturada, com repouso por 48 horas à 25°C. Fernandes Jr. *et al.* (1997) obtiveram extrato ao triturar 50 g de amostra em 100 mL de etanol 96° GL. Ikeno *et al.* (1991) aplicaram em cáries de ratos extratos etanólicos preparados com 5,0 volumes de etanol 99,5%, 25° C por

24h. Kumazawa, Hamasaka e Nakayama (2004) também utilizaram extrato etanólico obtido nesse período e temperatura.

Fernandes Jr. *et al.* (2001) para a obtenção de extratos etanólicos de própolis de Meliponíneos utilizaram 100 g de amostra para cada 100 mL de etanol 95% em temperatura ambiente por dois dias. Koo & Park (1997) utilizaram para cada 2,0 gramas de própolis 25 mL de etanol 80%, utilizando agitação por 30 minutos e temperatura de 70°C. Sforcin *et al.* (2000) trituraram 30 g de própolis com 100 mL de álcool etílico 95°, utilizaram agitação moderada e temperatura ambiente.

Percebe-se que a maneira mais comum de se extrair os princípios ativos da própolis bruta é usando álcool etílico a 70%, colocando uma quantidade da própolis bruta que pode variar de 5% até 30 % do peso final, e deixando em maceração. O tempo de contato da própolis bruta com o solvente pode variar de horas até semanas, com ou sem agitação. A separação da solução etanólica pode ser feita por filtração ou por centrifugação (Sawaya, 2006).

Cunha *et al.* (2004a) extraíram amostras de própolis variando a concentração de etanol no solvente, o tempo e temperatura de extração, a presença ou ausência de luz durante a extração e o tempo de extração (de 10 até 30 dias) concluindo que o fator que mais afetou a composição dos extratos foi o solvente. O tempo de extração afetou pouco a composição dos extratos e a luz e a temperatura aparentemente não afetou de nenhuma forma. Já Obregón Fuentes e Rojas Hernández (1990) analisaram o efeito da agitação sobre a extração, extraíndo amostras com e sem agitação e concluíram que este fator não influi na atividade antimicrobiana do extrato etanólico de própolis (EEP). Efetuaram extrações sucessivas de etanol na mesma amostra de própolis bruto, observando que a atividade antimicrobiana da primeira extração era superior à da segunda, que foi maior do que a terceira.

Park e Ikegaki (1998) verificaram que existe grande variação na concentração de flavonóides entre extratos dependendo da concentração etanólica utilizada para extração e esse fato está intimamente relacionado com a sua atividade biológica. Foi observado que o extrato etanólico a 80% foi o que apresentou os melhores resultados em todos os testes realizados, o que nos leva a concluir que é a melhor concentração para a preparação dos extratos.

Matsuno (1997), com a finalidade de evitar o cheiro característico de etanol, descreveu outras formas de extração. A extração em micela separa a própolis do etanol por meio de surfactantes e glicerina, facilmente misturável em meio aquoso. A extração pelo meio supercrítico dissolve própolis em CO₂ líquido, que evapora sem deixar resíduos de solventes.

A extração em meio aquoso tem a vantagem de usar solvente inócuo, mas exige esterilização em cada etapa e há a perda dos os princípios ativos não hidrossolúveis.

Tosi *et al.* (1996) avaliaram a atividade antibacteriana e antifúngica de amostras comerciais extraídas com etanol 60% (v/v) em água, glicerol, propilenoglicol e óleo comestível. Todas as extrações apresentaram atividade antimicrobiana sendo que a extração com glicerina apresentou menor atividade que as outras.

Alguns autores, para testar as atividades biológicas dos extratos de própolis utilizam extratos aquosos ao invés de etanólicos, Nagai *et al.* (2003) testaram as propriedades antioxidantes de extratos aquosos obtidos com 50g de amostra e 5 volumes de água destilada, agitação a 20 °C por um dia e uma reextração do resíduo por mais um dia. Bianchini e Bedendo (1998) utilizaram extrato aquoso de própolis obtido com 100 g de própolis triturada em 1 litro de água destilada por 1-2 minutos. Dimov *et al.* (1991) e Ivanovska *et al.* (1995) também utilizaram extrato aquoso de própolis.

Apesar de os extratos etanólicos e aquosos serem os mais utilizados, outros solventes para a obtenção dos extratos de própolis também foram testados na literatura. Higashi e Castro (1994) utilizaram extratos em dimetilsulfóxido, triturando as amostras de própolis no solvente por 4 horas e filtrando. Fontana *et al.* (2000) obtiveram extratos com um grama de própolis em 10 volumes de solventes de diversas polaridades (ex:hexano, metanol) a 25 °C e deixado por um dia em agitador (100 rpm). Marcucci *et al.* (2001) utilizaram extratos metanólicos de própolis (50 g com metanol à quente por 8 horas).

3.9 Instrução Normativa

A instrução normativa nº3 de 19 de Janeiro de 2001 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, que regulamenta a identidade e qualidade da própolis, a define como:

“O produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, colhidas pelas abelhas, de brotos, flores e exsudados de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto.” (Brasil, 2001, p.1).

A mesma instrução também classifica a própolis quanto ao teor de flavonóides:

- a) Baixo teor: até 1,0%(m/m);
- b) Médio teor: >1,0% - 2,0% (m/m);
- c) Alto teor: >2,0% (m/m).

Com relação às especificações, a mesma exige que a própolis tenha:

- a) Composição básica: resinas, produtos balsâmicos, cera, óleos essenciais, pólen e microelementos;
- b) Aroma: característico (balsâmico e resinoso) dependendo da origem botânica;
- c) Cor: amarelada, parda, esverdeada, marrom e outras, variando conforme a origem botânica;
- d) Sabor: característico de suave balsâmico a forte e picante, dependendo da origem botânica;
- e) Consistência (à temperatura ambiente): maleável e rígida, dependendo da origem botânica;
- f) Granulometria: heterogênea;
- g) Perda por dessecação: máximo de 8% (m/m);
- h) Cinzas: máximo de 5% (m/m);
- i) Cera: máximo de 25% (m/m);
- j) Compostos fenólicos: mínimo de 0,5% (m/m);
- k) Atividade de oxidação: máximo de 22 segundos;
- l) Massa mecânica: máximo 40% (m/m);
- m) Solúveis em etanol: mínimo de 35% (m/m);
- n) Espectro de absorção de radiações ultravioleta e visível: a própolis deverá apresentar picos característicos das principais classes de flavonóides entre 200 e 400nm;
- o) Acetato de chumbo: positivo;
- p) Hidróxido de sódio: positivo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foi coletada própolis de três regiões distintas do Ceará, uma da região serrana próxima da capital na localidade de Maranguape, outra sertão, Limoeiro do Norte e outra litorânea, Caucaia. Foram colocados dez coletores de própolis (Figura 2) em colméias escolhidas ao acaso em cada apiário das três regiões. A coleta foi realizada uma vez por mês durante três meses consecutivos, setembro, outubro e novembro. O experimento foi implantado em agosto de 2008 e as amostras coletadas nos três meses seguintes a este.

Figura 2 - Troca das melgueiras comuns por melgueiras contendo coletores de própolis em um apiário localizado em Caucaia.



Fonte: Autoria própria.

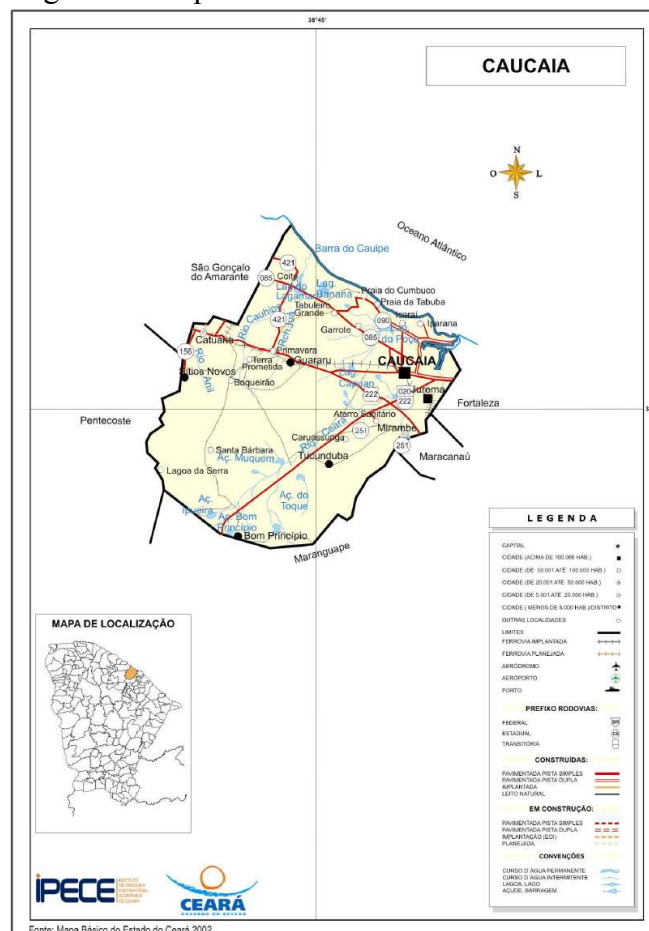
4.1 Localização do Experimento

O experimento laboratorial foi conduzido no PADETEC (Parque de Desenvolvimento Tecnológico) na Universidade Federal do Ceará, no período de dezembro de 2008 a julho de 2009.

4.2 Características dos locais de coleta

O apiário Colibrí está localizado em Capuã, no município de Caucaia (Figura 3), dista 20,0km de Fortaleza-CE (latitude 3° 44' 10"S, longitude 38° 39' 11"WGr), numa altitude de 29,9m e o acesso se faz pelas BR-020 e CE-085. Caucaia possui uma população de aproximadamente 334.364 habitantes, uma área territorial de 1.227,90 km² e faz parte da região metropolitana da cidade de Fortaleza (IPECE;IBGE, 2005a).

Figura 3 - Mapa de Caucaia no estado do Ceará.

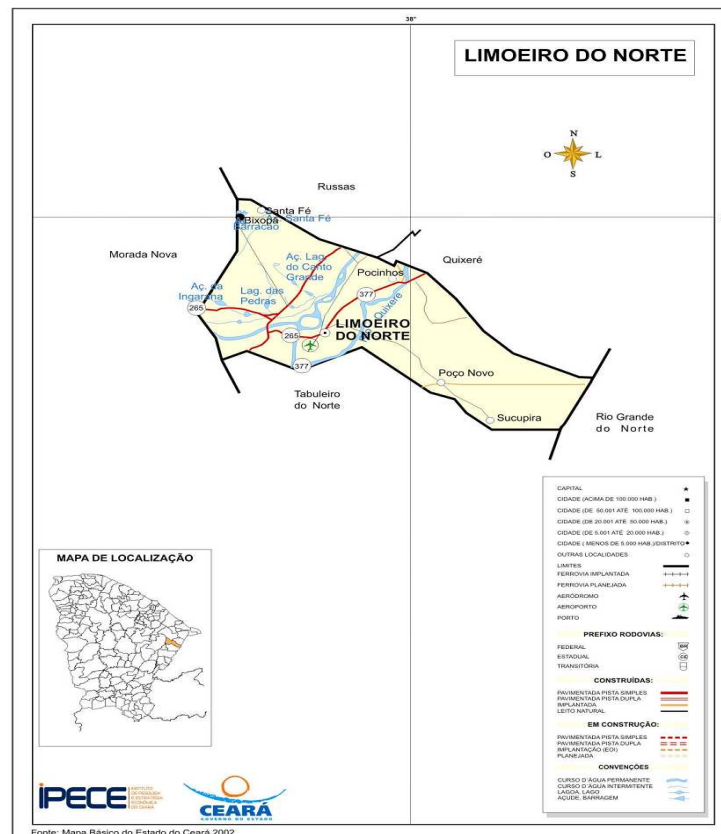


Fonte: IPECE;IBGE (2005a, p.3).

A vegetação de Maranguape-CE é caracterizada por caatinga arbustiva densa, floresta subcaducifólia tropical pluvial e floresta subperenifólia pluvio-nebular. O clima é classificado como Tropical Quente Úmido, com pluviosidade média de 1.378,9mm, temperatura média de 26° a 28°C e período chuvoso no intervalo de janeiro a maio. Seus relevos são classificados como maciços residuais e depressões sertanejas e seus solos como bruno não cálcicos, solos litólicos, planossolo solódico, podzólico vermelho-amarelo e vertissolos (IPECE; IBGE, 2005c).

O apiário Altamira fica localizado no município de Limoeiro do Norte (Figura 5). Possui uma população estimada em 56.098 habitantes aproximadamente, inserido no bioma Caatinga. Situada a 198 km de Fortaleza (latitude 5° 08' 44"; longitude 38° 05' 53"), sua área territorial é estimada em 751.535km², a 30,22m de altitude. O clima é tropical quente semi-árido, com uma pluviosidade de 720,5mm ao ano, período chuvoso de janeiro a abril e temperatura média de 27° a 33°C. Possui uma vegetação de caatinga arbustiva densa, uma floresta caducifólia espinhosa e floresta mista dicotillo-palmácea (IPECE; IBGE, 2005b).

Figura 5 - Mapa de Limoeiro do Norte no estado do Ceará.



Fonte: IPECE;IBGE (2005b, p.3).

4.3 Coleta das amostras

As amostras foram retiradas de coletores adaptados do tipo CPI (coletor de própolis inteligente) adaptados às melgueiras (Figura 6), uma vez por mês. Com o auxílio de uma faca para retirada da própolis depositada pelas abelhas nos coletores utilizados nesse experimento e colocados amostra por amostra separadamente, diretamente em sacos (ZIP) plásticos hermeticamente fechados e em seguida ficaram armazenados em freezer até o momento da pesagem. Esta foi realizada para se obter o rendimento mensal de própolis por cada colméia contida no experimento. Depois de pesadas, foi retirada uma quantidade de própolis variando de acordo com o peso individual de cada amostra para se fazer a extração da cera purificada, devido a alta variação entre as amostras.

Figura 6 - Primeira coleta realizada em Maranguape-CE.



Fonte: Autoria própria

4.4 - Separação da cera dos resíduos não solúveis em Nafta

Retirou-se uma pequena (determinada) quantidade de cada amostra de própolis coletada, pesou-se e as colocou em cartuchos elaborados com papel filtro, onde se colocou algodão abaixo e acima de cada amostra para evitar perda de material durante o período de refluxo realizado. Esse cartucho contendo própolis foi posto em um extrator do tipo Soxhlet

acoplado a um balão volumétrico contendo pedras de ebulição evitando assim que o material derrame durante a extração (Figura 7 e 8). Adicionou Nafta a esse conjunto como solvente extrator da cera purificada, onde cada conjunto permaneceu por um período de aproximadamente 24h.

Figura 7 - Amostras de própolis em aparelhos Soxhlet para extração da cera.



Fonte: Autoria própria.

Figura 8 - Processo de extração de cera.



Fonte: Autoria própria.

Após esse período, o material no cartucho ficou na capela até secagem total e depois foi pesado para se obter o rendimento de resíduo seco presente em cada amostra de própolis. Ficou armazenado para posterior análise das quantificações dos flavonóides totais.

A cera que foi extraída e a que ficou dissolvida no solvente foi posta em uma chapa aquecida para evaporação total da Nafta, tomando o cuidado de filtrar para que não fique resíduo em sua composição (Figura 9). Através dessa filtragem o material foi transferido para um béquer e depois colocado em uma cápsula já pesada até a total evaporação do solvente. Esperou-se esfriar para levar a cápsula contendo cera para nova pesagem e pela diferença de peso da cápsula sem e com cera obteve-se a quantificação de cera existente em cada amostra de própolis.

Figura 9 - Processo de evaporação de Nafta para obtenção de cera purificada.



Fonte: Autoria própria.

4.5 Acetilação e transesterificação da cera

Aproximadamente 50mg da amostra foi colocada em refluxo com 10mL de metanol, 10mL de benzeno e 0,5mL de ácido sulfúrico concentrado, por aproximadamente 4h.

Depois foi resfriado e adicionado a água e lavado com uma solução saturada de carbonato de sódio até ter atingido um pH próximo de 9 e em seguida foi rota-evaporado para retirar todo o líquido.

Posteriormente, foram adicionados 10mL de anidrido acético e 1 espátula de acetato de sódio Anidro e colocado em refluxo por 1h. Após esfriar, colocou-se 15mL de água e deixou-se reagir com o anidrido até que a reação liberasse calor fosse completada, isso levou uns 30 minutos. Extraíram-se os compostos preparados em clorofórmio, lavou-se com água e mediu-se o pH que tem que ser entre neutro e básico. O produto obtido foi submetido à análise por CG-MS para confirmar seus constituintes (Negri; Salatino; Salatino, 2003).

4.6 Teor de flavonóides totais

Para a quantificação do teor de flavonóides presentes nas amostras de própolis coletadas foi construída uma curva padrão com quercetina dihidratada, tomada como substância de referência para a análise. Aliquotas de 2,0 a 6,0 mL de solução etanólica de quercetina, a 50,0 µg/mL foram transferidas para balões volumétricos de 25,0 mL, contendo 1,0 mL de solução de cloreto de alumínio a 2,5%. O volume final de cada balão foi ajustado com etanol. Como branco do sistema, 1,0 mL da solução aquosa de cloreto de alumínio diluído em balão de 25,0 mL foi utilizada. Decorridos 30 minutos foi tomada a leitura de cada solução a 425 nm, em espectrofotômetro. Para a quantificação de flavonóides na amostra, foram utilizados 2,0 mL de solução de própolis a 2,0 mg/mL, os quais foram expressos como equivalentes de quercetina di-hidratada, sobre a própolis bruta (M/M) (Funari; Ferro, 2006).

4.7 Análise estatística

Para a análise de variância, utilizou-se o procedimento GLM (General Linear Model). O Delineamento experimental aplicado foi inteiramente casualizado. A comparação de médias foi realizada utilizando a opção LS MEANS e o teste T (Student) minimizando assim a variância do erro, utilizando o software SAS (Statistical Analysis System). No caso da variável teor de flavonóides foi necessário utilizar a técnica de transformação de variáveis utilizando a transformação do tipo radial para tornar os dados aproximadamente normais, pois a característica apresentou coeficiente de variação muito elevado, denotando uma alta instabilidade da resposta (CV > 45%) (Sampaio, 2007).

As variáveis avaliadas foram quantidade de própolis coletada (g/mês/apiário), quantidade de cera purificada (%/coleta) e quantidade de resíduos insolúveis (%/coleta) existente na própolis das três regiões, e ainda o teor de flavonóides totais presentes nesse resíduo.

Foi utilizado o modelo estatístico abaixo:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + R_j + M_i \times R_j + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = Característica medida (Peso de própolis, Percentagem de Cera, Percentagem de Resíduo e Teor de Flavonóides);

μ = Média associada a cada característica;

M_i = Efeito do mês de coleta (i = setembro, outubro e novembro)

R_j = Efeito da região do apiário (j = Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte)

$M_i \times R_j$ = Interação entre Mês e Região de Coleta ($i \times j$)

e_{ijk} = Erro aleatório para distribuição Normal e Variância iguais (Γ^2)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos através desse estudo, pode-se dizer que as amostras de própolis obtidas de Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte, através de coletas realizadas, a partir de dez colméias em cada um dos três apiários durante os meses de setembro, outubro e novembro se diferenciam com relação aos seus aspectos físicos como cor, cheiro, consistência e quantidade.

As amostras coletadas em Caucaia-CE apresentaram coloração mais escura em tonalidades do marrom, tendendo para o marrom-escuro (Figura 10). Nas amostras coletadas em Maranguape-CE, observou-se coloração tendendo para o marrom desde claro até o escuro, algumas muito resinosas com brilho intenso e em algumas colméias notou-se coloração esbranquiçada em parte da amostra (Figura 11). Em Limoeiro do Norte-CE, as amostras apresentaram suas tonalidades variando do marrom, marrom-esverdeado até o esverdeado, onde esta última apareceu com grande frequência (Figura 12).

Figura 10 - Tipos de cera e resíduo seco obtidos através da extração realizada nas amostras de própolis de Caucaia-CE.



Fonte: Autoria própria.

Figura 11. Tipos de cera e resíduo seco obtidos através da extração realizada nas amostras de própolis de Maranguape-CE.



Fonte: Autoria própria.

Figura 12 - Tipos de cera e resíduo seco obtidos através da extração realizada nas amostras de própolis de Limoeiro do Norte-CE.



Fonte: Autoria própria.

Houve colméias que não produziram nada, houve as que produziram pouco mais de 2,0g e outras ainda que ultrapassaram 100g, por isso não se pôde fazer uma padronização dessa quantidade retirada para realização da extração.

A cera purificada extraída e os resíduos secos obtidos através da extração da própolis realizada com Nafta (solvente utilizado) também variaram substancialmente em relação a quantidade, cor e consistência. As ceras purificadas de Caucaia apresentaram coloração mais clara, as de Maranguape também foram claras e as de Limoeiro do Norte apresentaram suas tonalidades mais escuras que estas duas. Os resíduos secos obtidos variaram bastante de coloração também indo de quase preto até quase verde.

A consistência também foi muito diferente entre as amostras: em algumas, o resíduo da extração ficou grudado no algodão utilizado, por que estas apresentaram bastante resina em sua composição. Pôde-se observar como as amostras diferiram de uma para outra em relação ao aspecto e quantidade, tanto em relação aos apiários (localizados em microrregiões distintas), como também entre colméias dispostas no mesmo apiário, não só as que se apresentavam mais distante como as que estavam dispostas uma ao lado da outra.

No decorrer do experimento, no apiário localizado em Caucaia-CE, verificou-se que algumas colméias (famílias) foram enfraquecendo e até morrendo. Isso pode ter realçado a menor produção de própolis apresentada pelas colméias do apiário. Em Maranguape-CE, as colméias (famílias) se enfraqueceram durante as coletas, mas apenas uma morreu. Já em Limoeiro do Norte-CE, todas apresentaram famílias fortes e com boa produção de própolis.

Na Tabela 2, estão discriminadas os valores das médias, dos desvios-padrão, do menor e do maior valor observado das variáveis peso da própolis, da percentagem de cera, da percentagem de resíduo seco e do teor de flavonóides dos três apiários em estudo

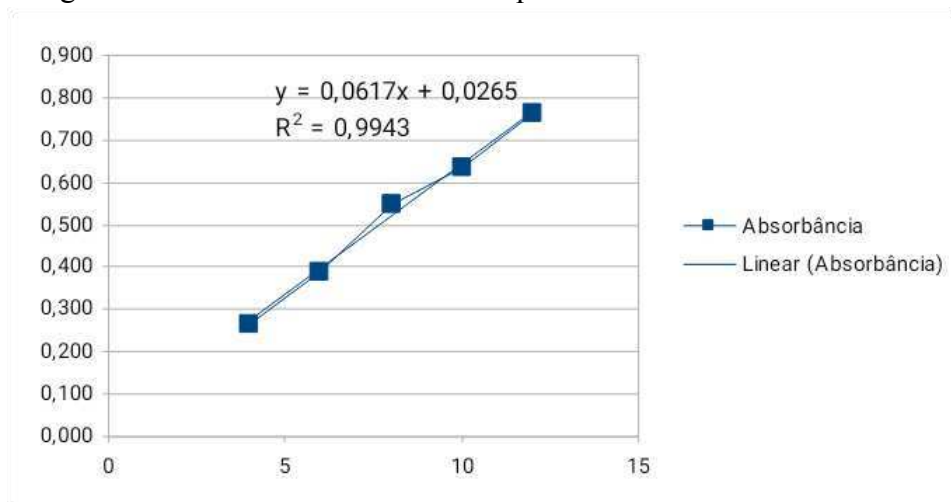
representados como Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte. A Figura 13 apresenta a curva padrão com quercetina dihidratada, com equação da reta e o coeficiente de correlação.

Tabela 2 - Peso de própolis (PESOP), percentual de cera (PERCP), de resíduo seco (PERCRES) e concentração de flavonoides (FLAVO) nas amostras dos três apiários em estudo.

VARIÁVEL	N	MÉDIA	DESVPAD	MENOR VALOR	MAIOR VALOR	APIÁRIO
PESOP	23	21,599	11,214	8,52	55,89	CAUCAIA
PERCP	21	66,041	8,133	48,174	79,2	CAUCAIA
PERCRES	23	27,617	11,650	10,6	60,66	CAUCAIA
FLAVO	23	0,332	0,160	0,19	0,644	CAUCAIA
PESOP	26	22,191	9,951	8,28	51,95	MARANGUAPE
PERCP	25	63,577	11,406	23,204	87,182	MARANGUAPE
PERCRES	26	30,637	11,639	19,65	72,136	MARANGUAPE
FLAVO	26	0,609	0,223	0,279	1,212	MARANGUAPE
PESOP	29	44,906	16,427	14,3	81,64	LIMOEIRO DO NORTE
PERCP	29	42,126	19,083	5,98	65,16	LIMOEIRO DO NORTE
PERCRES	29	38,356	13,780	12,579	61,4	LIMOEIRO DO NORTE
FLAVO	29	5,822	2,816	0,953	12,369	LIMOEIRO DO NORTE

Fonte: Autoria própria. N: número de amostras. DESVPAD: Desvio-padrão. Medidas do PESOP em gramas. PERCP e PERCRES em %. Dados de FLAVO expressos como equivalente de quercetina dihidratada sobre a própolis bruta (M/M) ou µg/ml.

Figura 13 - Curva de absorbância de quercetina.



Fonte: Autoria própria.

De acordo com a Tabela 2, o apiário que apresentou a maior média em relação ao peso obtido por coleta foi o apiário localizado em Limoeiro do Norte (44,906g) e o que apresentou a menor média do peso da própolis foi o de Caucaia (21,599g).

Para o parâmetro percentagem de cera purificada, neste estudo, afirma-se que as amostras de própolis coletadas em Caucaia apresentou a maior média por apiário (66,041%) e Limoeiro do Norte apresentou a menor média por apiário (42,126%).

Em relação a percentagem de resíduo seco, o apiário que apresentou em sua própolis o maior valor foi Limoeiro do Norte (38,356%) e o apiário que apresentou o menor valor foi Caucaia (27,617%).

As amostras coletadas em Limoeiro do Norte também apresentaram uma maior média em relação à concentração de flavonóides (05,822 μ g/ml) e Caucaia também apresentou a menor média (0,332 μ g/ml).

5.1. Peso da própolis

A Tabela 3 mostra as médias mensais das quantidades, por coleta e por apiário, das amostras de própolis coletadas com seus respectivos pesos médios.

Tabela 3 - Peso de cada própolis coletada em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte nos meses de setembro, outubro e novembro.

Mês	Apiário			Média
	Caucaia	Maranguape	Limoeiro do Norte	
	Peso da própolis (g)¹			
Setembro	21,526 bA	26,459bA	55,173aA	34,386A*
Outubro	24,575bA	21,111bA	35,882aB	27,189B
Novembro	14,322bA	17,484bA	43,524aB	25,110B
Média	20,141b	21,684b	44,859a**	

Mesma letra não diferem estatisticamente entre si, sendo as minúsculas nas comparações entre os apiários (colunas) e as maiúsculas nas comparações entre os meses (linhas); * p<0,05; ** P<0,01; ¹CV= 40,040

Os resultados obtidos (Tabela 3) mostram que o apiário localizado em Limoeiro do Norte apresentou uma maior produção de própolis em todas as coletas realizadas durante este experimento. Isso pode ser causado por fatores como: influência da flora apícola existente nessa região, que é muito rica, por suas colônias estarem com grandes populações e saudáveis, por uma maior necessidade de coleta e, também, por uma maior disponibilidade de resina das plantas dessa região (Crane; 1988, Salatino *et al*, 2005), isolados ou em conjunto.

Comparando a produção de própolis dos três meses, no apiário de Caucaia, pode-se dizer que não houve diferença estatística ($p > 0,05$) com sua maior coleta sendo efetuada no mês de outubro (24,575g) como mostra a Tabela 3.

Em Maranguape, a coleta efetuada no mês de setembro apresentou maior peso que a coleta realizada no mês de outubro e este apresentou maior peso que a amostra coletada em novembro. Apesar disso, estatisticamente não houve diferença entre os pesos avaliados.

Comparando os meses de coleta de própolis efetuadas no apiário localizado em Limoeiro do Norte, pode-se afirmar que a coleta realizada no mês de setembro apresenta uma diferença estatística altamente significativa ($P < 0,01$) das coletas realizadas nos meses de outubro e novembro. A produção de própolis foi bem maior no primeiro mês (média de 55,173g), já no segundo (média de 35,882g) diminuiu bastante e no terceiro (média de 43,524g) ocorreu um aumento.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se dizer que a média mensal da produção de própolis do mês de setembro diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) das outras duas coletas realizadas, independente do apiário em que foram coletadas, onde sua produção foi bem maior que a dos outros dois meses posteriores. Isso pode ter ocorrido porque nesse primeiro mês todas as colméias dos três apiários testados ainda possuíam suas colônias fortes, com suas famílias populosas, e que tinham a sua disposição um pasto apícola em abundância e nos meses posteriores essa flora foi diminuindo por falta de chuvas (IPCE; IBGE, 2005).

5.2. Cera

A Tabela 4 apresenta as comparações dos três meses de coleta e dos três apiários estudados, dos valores médios das porcentagens de cera em cada amostra de própolis coletada.

Tabela 4 - Porcentagem de cera na própolis coletada em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte nos meses de setembro, outubro e novembro.

Mês	Apiário			Média
	Caucaia	Maranguape	Limoeiro do Norte	
	Porcentagem de cera (%)³			
Setembro	69,736aA	68,570aA	23,255bB	53,854B
Outubro	63,258aA	60,839aA	56,856aA	60,317A*
Novembro	64,910aA	59,361aA	46,726bA	56,999B
Média	65,968a	62,923a	42,279b**	

Mesma letra não diferem estatisticamente, sendo as minúsculas nas comparações entre os apiários (colunas) e as maiúsculas nas comparações entre os meses (linhas); * $p < 0,05$; ** $P < 0,01$; ³CV= 19,808

O percentual de cera considerado pelo Ministério da Agricultura é de no máximo 25% (Brasil, 2001), o que comparando com os resultados obtidos nesse experimento, pode-se afirmar que todas as amostras analisadas apresentaram um elevado percentual de cera, e que estão fora das regulamentação vigente pela legislação nacional.

Em Caucaia, a percentagem de cera não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$) em relação ao mês de coleta, o mês em que a própolis apresentou maior percentagem de cera foi o 1º (setembro), o que apresentou menos foi o segundo e no terceiro mês teve um leve aumento. O mesmo ocorreu para as coletas mensais de Maranguape.

Com relação a comparação da porcentagem de cera existente nas amostras de própolis entre apiários, as amostras obtidas de Caucaia e Maranguape não diferiram com significância, onde esse valor foi superior nas amostras coletadas em Limoeiro do Norte. Essa diferença estatística foi altamente significativa ($p < 0,01$). Essa alta porcentagem de cera apresentada nas amostras de própolis de Caucaia e Maranguape pode ser explicada pelo fato de que as abelhas necessitam acrescentar uma quantidade maior de cera na formação dessa própolis, o que não ocorreu nas amostras coletadas em Limoeiro do Norte.

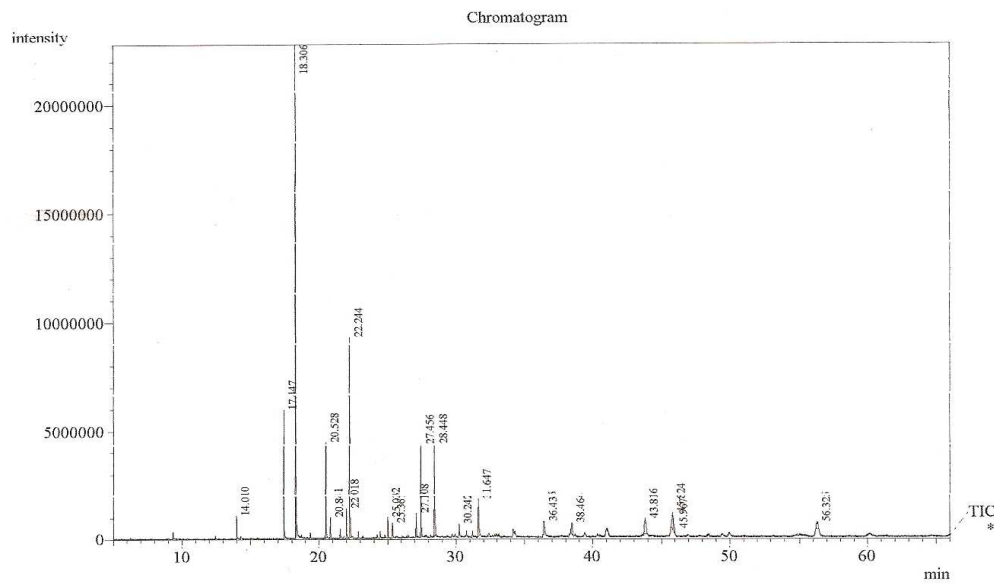
A média para percentagem de cera referente ao mês de outubro foi superior ($p < 0,05$) aos demais sem levar em consideração os locais de coleta.

Segundo Negri, Salatino e Salatino (2003) e Woisky e Salatino (1998), os teores de cera nas própolis variam de 4,5 até 30%. O teor de cera é importante para se saber a qualidade da própolis, pois uma grande quantidade de cera está relacionada com pequenas frações das outras classes de substâncias que possuem grande importância biológica.

Utilizando Nafta como solvente, a cera presente na própolis foi extraída e em seguida foi analisada por CG-MS. Para tanto, a cera obtida foi convertida para seus ésteres metílicos por transesterificação em meio ácido. Após neutralização e evaporação, o resíduo obtido foi submetido a acetilação com anidrido acético tendo acetato de sódio anidro como catalisador. Após decomposição do excesso de anidrido e extração com clorofórmio e concentração, a cera de própolis modificada foi obtida, os seus ésteres graxos foram convertidos em éteres metílicos e os seus álcoois graxos foram acetilados. O produto obtido foi então analisado pela CG-MS.

Por comparação com Negri, Salatino e Salatino (2003), pode-se observar que a cera obtida tem composição semelhante a cera reportada por esse autor, sendo constituída principalmente por monoésteres e hidrocarbonetos, e o processo de extração com nafta foi bem sucedida. Não foi possível realizar várias análises por CG-MS de todas as amostras, apenas um cromatograma (Figura 14).

Figura 14 - GCMS Sample Information de uma cera proveniente de Caucaia.



Tempo de Retenção (Min)	Fração
18,30 -----	Ácido C ₁₆
20,52 -----	Ácido C _{18:1}
22,24 -----	Ácido C ₂₀
27,45 -----	Hidrocarboneto C ₂₅
28,44 -----	Hidrocarboneto C ₂₇

Fonte: Autoria própria.

5.3. Resíduo seco

O resíduo seco, também chamado de resíduo insolúvel e comumente descrito como massa mecânica, é a parte mais importante da própolis, pois é nela que estão contidos os princípios ativos da própolis, podendo até ser chamado de própolis propriamente dita. É desejável que na própolis haja um maior teor de resíduo insolúvel do que de cera (Marcucci, 1995; Park *et al*, 2000).

A Tabela 5 apresenta os resultados referentes a percentagem de resíduo seco presente nas amostras de própolis coletadas nos meses de setembro, outubro e novembro nos apiários localizados em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte através de dez colméias em cada apiário.

De acordo com o Ministério da Agricultura para o percentual de resíduo seco presente na própolis tem que ser no mínimo de 35% (Brasil, 2001). Comparando este valor com os valores obtidos das própolis estudadas nesse experimento, pode-se afirmar que apenas

a amostra coletada, no mês de novembro (52,824%) do apiário de Limoeiro do Norte, apresentou valor maior que 35%.

Tabela 5 - Percentagem de resíduos insolúveis na própolis coletada em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte nos meses de setembro, outubro e novembro.

Mês	Apiário			Média
	Caucaia	Maranguape	Limoeiro do Norte	
	Percentagem de resíduo (%) ²			
Setembro	26,970aA	27,611aA	32,487aB	29,022B
Outubro	26,159aA	32,719aA	31,202aB	30,027B
Novembro	32,717bA	32,281aB	52,824aA	39,274A*
Média	28,615b	30,870b	38,838a*	

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente, sendo as minúsculas nas comparações entre os apiários (colunas) e as maiúsculas nas comparações entre os meses (linhas); * $p < 0,05$; ** $P < 0,01$; ² CV= 34,370

Para o parâmetro resíduo seco insolúvel proveniente da própolis coletada nesse experimento, viu-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) com relação aos apiários em estudo destacando-se Limoeiro do Norte, que apresentou uma maior percentagem de resíduo seco presente na própolis coletada nessa região (Tabela 5).

Em relação a percentagem de resíduo da própolis de Caucaia, foi apresentado um maior valor no mês de novembro, apesar de ter sido coletado menos própolis.

Depois de observar o peso das própolis coletadas, os percentuais de cera e de resíduo seco, pode-se dizer que a percentagem de cera e de resíduo não é influenciada pelo peso da coleta realizada, que mesmo com o peso da coleta sendo menor, o percentual de resíduo pode ser maior em relação as outras coletas.

Em estudos de extração de própolis por Cunha *et al.* (2004b), aumentos no rendimento do processo não implicaram variação proporcional no teor de componentes do resíduo seco/insolúvel, o que sugere que a quantidade total produzida pode não influenciar diretamente o teor de resíduo insolúvel. Além disso, Silva *et al.* (2006) observaram que além dos constituintes químicos da própria própolis variarem de acordo com o período da colheita, também verificaram que de uma colméia para outra há diferenças significativas, como o observado no presente trabalho.

5.4. Teor de Flavonóides

O teor de flavonóides totais foi analisado a partir dos resíduos secos obtidos através da extração realizada nas amostras de própolis.

O procedimento empregado para a determinação do teor de flavonóides totais fundamenta-se na capacidade do íon alumínio de estabelecer complexos estáveis com essas substâncias. Essa interação promove, durante a leitura espectrofotométrica, um deslocamento das bandas de absorção para comprimentos de onda mais elevados, acompanhado do aumento da intensidade da absorvância (Wollenweber; Jay, 1988). Assim, torna-se possível estimar o conteúdo de flavonóides da amostra, minimizando a interferência de outros compostos fenólicos, sobretudo dos ácidos fenólicos (Marcucci; Woisky; Salatino, 2003).

Além de ser vantajoso poder utilizar em laboratórios desprovidos de aparelhos mais sofisticados (Woisky; Salatino, 1998; Chang *et al.* (2002), Zuanazzi (2001) afirma que o método de quantificação espectrofotométrica de flavonóides pela reação com cloreto de alumínio é preciso e reprodutível, ainda que pouco exato (geralmente fornece valores inferiores ao real), apresentando desvios muito pequenos ou nulos entre um ensaio e outro, se realizados com a mesma amostra.

A Tabela 6 contém o teor de flavonóides, em percentual, presentes nos resíduos insolúveis das amostras de própolis coletadas em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte.

Tabela 6 - Teor de flavonoides dos resíduos insolúveis das amostras de própolis coletadas em dez colméias localizadas em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte nos meses de setembro, outubro e novembro.

TEOR DE FLAVONÓIDES (%)											
CAUCAIA				MARANGUAPE				LIMOEIRO DO NORTE			
A	SET	OUT	NOV	A	SET	OUT	NOV	A	SET	OUT	NOV
C1	0,129	0,322	0,105	C1	0,606	0,346	0,314	C1	3,507	2,821	4,288
C2	-	0,010	0,053	C2	0,271	0,328	0,306	C2	2,451	0,476	4,092
C3	0,218	0,128	0,194	C3	0,366	0,297	0,245	C3	0,853	1,842	2,662
C4	0,245	0,200	-	C4	0,223	0,407	0,140	C4	0,559	6,185	-
C5	0,120	0,084	-	C5	0,199	-	-	C5	3,272	1,200	3,310
C6	0,187	0,217	-	C6	0,223	0,253	0,198	C6	3,114	3,964	4,121
C7	0,076	0,136	-	C7	0,439	0,396	-	C7	2,570	2,152	5,988
C8	0,073	0,190	0,261	C8	0,255	0,559	0,286	C8	2,566	2,100	3,635
C9	0,137	0,275	-	C9	0,174	0,273	0,355	C9	2,208	2,070	5,004
C10	0,263	0,198	-	C10	0,173	0,289	-	C10	2,700	1,857	2,847

A= amostra; C= colméia; SET= setembro; OUT= outubro; NOV= novembro; - sem amostra.

O valor requerido pelo Ministério da Agricultura para o teor de flavonóides totais presentes na própolis é de, no mínimo, > 0,5% até 1,0 %; de médio teor, entre 1,0 e 2,0 % e de alto teor, acima de 2,0 % (Brasil, 2001) na amostra. Sabe-se, por exemplo, que própolis de zonas temperadas, como Europa, podem conter acima de 20% destas substâncias (Marcucci;

Bankova, 1999), então nota-se que esta classificação é relativa e leva em conta somente a faixa de teores de flavonóides comumente reportados em amostras brasileiras, utilizando-se o método de reação de flavonóides com cloreto de alumínio, indicado pelo Ministério da Agricultura.

Com isso afirma-se que nas amostras coletadas em Caucaia todas foram abaixo do valor mínimo exigido. Em Maranguape, houve apenas duas amostras (0,61% e 0,56%) que apresentaram o teor de flavonóides um pouco acima do mínimo. Uma dessas amostras foi coletada no mês de outubro (0,56%) e é proveniente de uma colméia (colméia 8) cuja própolis aparentava ser bastante resinosa. Já em Limoeiro do Norte, apenas uma amostra apresenta o valor mínimo permitido; três amostras apresentaram valor médio permitido; e vinte e uma amostras apresentaram alto teor de flavonóides, de acordo com os parâmetros do Ministério da Agricultura (Brasil, 2011).

Como pode-se observar na Tabela 6, as amostras de própolis coletadas no apiário localizado em Limoeiro do Norte mostraram-se extremamente ricas em flavonóides totais, que foram verificadas a partir do resíduo seco obtido através da extração realizada.

A partir das análises, pode-se verificar a diferença em relação ao teor de flavonóides existente nas amostras de própolis coletadas em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte nos meses de setembro, outubro e novembro. Isso é mostrado na Tabela 7.

Tabela 7 - Concentração de Flavonóides existente nas amostras de própolis coletada em Caucaia, Maranguape e Limoeiro do Norte nos meses de setembro, outubro e novembro.

Mês	Apiário			Média
	Caucaia	Maranguape	Limoeiro do Norte	
	Teor de flavonóides (μg)⁴			
Setembro	0,3213bA	0,5859bA	4,7600aB	1,8891B
Outubro	0,3519bA	0,6995bA	4,9331aB	1,9948B
Novembro	0,3062bA	0,5267bA	7,9880aA	2,9403A*
Média	0,3265b	0,6041b	5,8937a**	

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente, sendo as minúsculas nas comparações entre os apiários (colunas) e as maiúsculas nas comparações entre os meses (linhas); * $p < 0,05$; ** $P < 0,01$; ⁴ CV= 17,928

Segundo a Tabela 7, pode-se dizer que houve diferença estatística em relação às três fisionomias de caatinga, mostrando que a própolis coletada em Limoeiro do Norte é significativamente mais rica em flavonóides com relação à Caucaia e Maranguape, onde não houve diferença estatística entre estas. Isso pode ser explicado pelo fato de a microfauna de Limoeiro do Norte ser mais rica em relação às outras duas regiões analisadas, além de possuir

cerca de 25 espécies melíferas com abundante produção de pólen (Lima, 1995; Alcoforado Filho, 1996).

De acordo com o teste de médias realizado, observou-se que o efeito mensal, sem levar em consideração o efeito do apiário, provocou diferença significativa ($p < 0,01$), onde o mês de novembro apresentou a maior média para esse parâmetro estudado.

Não houve diferença estatística quando comparado os três meses no teor de flavonóides da própolis coletada em Caucaia e em Maranguape. No apiário de Limoeiro do Norte, dentre os meses de coleta de própolis, as amostras que apresentaram maior concentração de flavonóides foi o mês de novembro.

O valor encontrado por outros autores, como Funari e Ferro (2006) e Bonvehí e Coll (1994) foram de 2,64% e 3%, respectivamente, para amostra de própolis brasileira. Em comparação, os valores encontrados para as amostras de Limoeiro do Norte foram superiores. Com relação às outras regiões, não se descarta a possibilidade que sejam ricas em outros compostos, visto que Chang *et al.* (2002) atingiu diferentes teores de flavonoides empregando tanto o método utilizado no presente trabalho, que retornou resultado em torno de 3%, quanto o método colorimétrico cujo princípio foi a complexação de flavonóides com 2,4-dinitrofenilidrazina, que mostrou-se específico para flavanonas, atingindo o valor de 7,12%. Desta forma, sugere-se que dois métodos sejam utilizados complementarmente, e que o valor de flavonóides totais seja calculado como a soma dos dois resultados, já que cada método quantifica flavonóides de subclasses distintas.

Lustosa (2007) coletou amostras de própolis vermelha nos meses de fevereiro, junho e outubro e viu que a amostra coletada no mês de outubro apresentou um maior teor de flavonóides, bem como menor teor de ceras, o que indicaria este mês como o mais apropriado para coleta, especialmente se a própolis for utilizada para fins medicinais, uma vez que são atribuídas aos flavonóides várias propriedades farmacológicas.

Neste trabalho, a metodologia utilizada em relação a essa análise difere da metodologia dos demais trabalhos em relação ao que material que se é extraído, pois em vez de se extrair os resíduos insolúveis da própolis, resolveu-se extrair a cera existente em cada amostra. Utilizou-se para isso um solvente, que é extraído do petróleo, conhecido comercialmente como Nafta. A maioria das extrações realizadas é feita utilizando como solvente para extração o etanol, o metanol e o hexano, e mais conhecidos. A Nafta é bem utilizada na extração de cera da carnaúba.

A própolis bruta possui na sua composição principalmente ceras, resinas e outros compostos orgânicos e inorgânicos. De acordo com Warth (1956) para separar os constituintes

resíduos e cera, a própolis deve ser extraída com clorofórmio e em seguida separada com álcool absoluto. Vários autores, de fato, utilizam clorofórmio (Woisky; Salatino, 1998; Negri; Salatino; Salatino; 2003) ou éter de petróleo (Galindo, 2007) para remoção da cera presente na própolis. Embora esses solventes e mais o etanol sejam os mais empregados, devido à composição complexa do própolis e variação dos seus principais constituintes em termos da região produtora e época do ano (Matsuno, 1997), observou-se que há também a busca por solventes diferentes para a sua purificação.

De acordo com o Warth (1956), a cera de abelha é pouco solúvel em etanol (0,97g/100g de solvente) solúvel em éter e clorofórmio e possui uma solubilidade de 64,2g em 100g de Nafta, sendo solúvel em Nafta quente. Além disso, a Nafta é um solvente que além de permitir a remoção da cera presente na própolis, tem a vantagem sobre o clorofórmio devido a sua seletividade na solubilização apenas das ceras não necessitando, como no caso da utilização do clorofórmio, de uma purificação adicional. Possui, ainda, vantagem sobre o éter de petróleo, porque a Nafta possui ponto de ebulição mais alto que este. Krell (1996) cita nafta como uma alternativa de solvente de cera, o que, neste trabalho, provou-se ser bem sucedida.

6. CONCLUSÕES

A produção de própolis apresenta potencial variável, haja vista que Limoeiro do Norte se sobressaiu em relação às outras duas regiões estudadas;

Própolis produzida onde há pouca disponibilidade de resina, seja pela flora local ou momentânea, apresenta alto teor de cera;

A própolis coletada no município de Limoeiro do Norte apresentou qualidades que atualmente a tornam mais interessante em termos comerciais em relação a própolis coletada em Caucaia e Maranguape, requerendo com isso estudos mais aprofundados para melhor caracterização da mesma;

Foi desenvolvido um novo método para extração de cera da própolis utilizando como solvente a Nafta.

REFERÊNCIAS

ACKERMANN, T. Fast chromatography study of propolis crudes. **Food Chemistry**, Barking, v. 42, n. 2, p. 135-138, 1991.

ADELMANN, J. **Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana / antioxidante**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

AGA, H. *et al.* Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Oxford, v. 58, n. 5, p. 945-947, 1994.

AHN, M. *et al.* Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. **Food Chemistry**, United Kingdom, v. 101, n. 4, p. 1400-1409, 2007.

ALCOFORADO FILHO, F. G. Flora Apícola e seu Aproveitamento. **Anais do XI Congresso Brasileiro de Apicultura**, Teresina, Piauí, n. 11, p. 131-134, 1996. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/49352>. Acesso em: 23 jun. 2008.

ALENCAR, S. M. *et al.* Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 113, n. 2, p. 278-283, 2007.

ALENCAR, S. M. *et al.* Composição química de *Baccharis dracunculifolia*, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 909-915, 2005.

BAHIA. Secretaria da Agricultura, Pecuária, Irrigação, Pesca e Aquicultura. **Produção de própolis vermelha agrega valor à apicultura**. Salvador: SEAGRI, 20 ago. 2009a. Disponível em: <https://www.ba.gov.br/seagri/noticias/2009/08/20/produ%C3%A7%C3%A3o-de-pr%C3%B3polis-vermelha-agrega-valor-%C3%A0-apicultura>. Acesso em: 24 ago. 2009.

BAHIA. Secretaria da Agricultura, Pecuária, Irrigação, Pesca e Aquicultura. **Própolis: uma alternativa para diversificar a produção apícola**. Salvador: SEAGRI, 7 jan. 2009b. Disponível em: <https://www.ba.gov.br/seagri/noticias/2009/01/07/pr%C3%B3polis-uma-alternativa-para-diversificar-produ%C3%A7%C3%A3o-ap%C3%ADcola>. Acesso em: 24 ago. 2009.

BANKOVA, V. *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. **Zeitschrift für Naturforschung C – A Journal of Biosciences**, Tübingen, v. 50c, n. 3-4, p. 167-172, 1995.

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 100, n. 1-2, p. 114-117, 2005.

BANKOVA, V.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, Paris, v. 31, n. 1, p. 3-15, 2000.

- BANKOVA, V. *et al.* Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. **Apidologie**, Paris, v. 29, 361-367, 1998.
- BANSKOTA, A. H. *et al.* Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 61, n. 5, p. 542-548, 1998.
- BARTH, O. M.; DUTRA, V. M. L.; JUSTO, R. L. Análise polínica de algumas amostras de própolis do Brasil Meridional. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 4, p. 663-667, 1999.
- BASTOS, E. M. A. F. **Origem botânica e indicadores de qualidade da “Própolis Verde” produzida no estado de Minas Gerais, Brasil.** 2001. Tese (Doutorado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2001.
- BASTOS, E. M. Grão de pólen e estruturas secretoras de plantas como indicadores de origem botânica do mel e da própolis. **Anais do XII Congresso Brasileiro de Apicultura**, Salvador, Bahia. p. 71-72, 1998.
- BIANCHINI, L. F.; BEDENDO, I. P. Efeito antibiótico do própolis sobre bactérias fitopatogênicas. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 1, p. 149-152, 1998.
- BONVEHÍ, J. S.; COLL, F. V. Phenolic composition of propolis from China and South America. **Zeitschrift für Naturforschung**, Tübingen, v. 49c, p. 712-718, 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001.** Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Própolis. Brasília, DF: MAPA, Seção 1. p. 18. Anexo 4, 23 jan. 2001.
- BREYER, E. U. **Abelhas e saúde.** 1 ed. União da Vitória: Uniporto Gráfica e Editora Ltda., 1980.
- BREYER, H. F. E. Aspectos de produção, coleta, limpeza, classificação e acondicionamento de própolis bruta de abelhas *Apis mellifera*. **Anais do Simpósio Estadual de Apicultura do Paraná e VII Exposição de Equipamentos e Materiais Apícolas**, Prudentópolis, Paraná, p. 143, 1995.
- BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 347-363, 1998.
- CARVALHO, G. J. L. *et al.* Efeito do extrato de própolis, benzoato de benzila, Cypermethrin e álcool de cereais no tratamento de sarcoptes em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Anais do VIII Encontro Estadual de Apicultura**, Cruz das Almas, 2003.
- CASIMIRO, T. R. **Produto à base de própolis para bezerras Lactentes.** 2008. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.
- CASTALDO, S.; CAPASSO, F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, Milan, v. 73, supl. 1, p. S1-S6, 2002.

CASTRO, S. L.; HIGASHI, K. O. Effects of different formulations of propolis on mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 46, p. 55-58, 1995.

CASTRO, S. L. Propolis: biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. **Annual Review of Biomedical Sciences**, Botucatu, v. 3, p. 49-83, 2001.

CHANG, C. C. *et al.* Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, Taiwan, v.10, n.3, p.178-182, 2002.

CHO, H.; TORII, M.; KANAMORI, T. **Foul breath suppressing agent**. Depositante: Sunstar Inc. JP 63264516. Depósito: 22 abr. 1987. Publicação: 01 nov. 1988.

CHOPRA, S. *et al.* Própolis protects against doxorubicin-induced myocardial pathology in rats. **Experimental and Molecular Pathology**, San Diego, v. 62, n. 3, p. 190-198, 1995.

ČIŽMÁRIK, J.; LAHITOVÁ, N. Antimutagenicity of propolis. **Pharmazie**, Eschborn, v. 53, n. 12, p. 883-884, 1998.

COLONI, R. D. *et al.* Extrato etanólico de própolis sobre o ganho de peso, parâmetros de carcaça e pH cecal de coelhos em crescimento. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 20, n. 2, p. 59-64, 2007.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids – Chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 7, n. 2, p. 66-76, 1996.

CRANE, E. **Bees and beekeeping: science, practice and world resources**. Oxford: Heinemann Newnes, 1988.

CUNHA, I. B. da S. *et al.* Antitrypanosomal activity of Brazilian propolis from *Apis mellifera*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 27, n. 5, p. 602-604, 2004a.

CUNHA, I. B. da S. *et al.* Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 15, n. 6, p. 964-970, 2004b.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 26, n. 5, p. 343-356, 2005.

D'ALBORE, G. R. L'origine géographique de la propolis. **Apidologie**, Paris, v. 10, p. 241-267, 1979.

DE JAGER, A. J. *et al.* The effect of commercial propolis production on hive profitability. **Apiacta**, Bucarest, n. 3, 2002.

DIAS, D. F. A. **Dossiê Técnico: Sistemas de Acondicionamento para própolis**. Salvador: Rede de Tecnologia da Bahia - RETEC/BA, 2007.

DIERCKX, S. M. A. G.; FUNARI, S. R. C. Uso da própolis na alimentação de leitões desmamados como aditivo e na prevenção à diarreia. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, Mayagüez, v. 7, n. 2, p. 109-116, 1999.

DIMOV, V. *et al.* Immunomodulatory action of propolis - Influence on antiinfectious protection and macrophage function. **Apidologie**, Paris, v. 22, n. 2, p. 155-162, 1991.

DUARTE, S. *et al.* Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of mutans streptococci. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 26, n. 4, p. 527-531, 2003.

EMATER-MG – Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Relatório de Atividades 2002: Apicultura**. Belo Horizonte: EMATER-MG, 2002.

Disponível em:

<https://www.emater.mg.gov.br/doc/site/AEmatermg/Relat%C3%B3riodeatividades2002.pdf>.

Acesso em: 24 jan. 2009.

FARNESI, A. P. **Efeitos da própolis de abelhas africanizadas e meliponíneos em microorganismos**. 2007. Dissertação (Mestrado em Genética) -Faculdade de Medicina Ribeirão Preto-USP, Ribeirão Preto, 2007.

FERNANDES JÚNIOR, A. *et al.* Antimicrobial activity of propolis extracts against bacteria isolated from dental caries. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v. 3, n. 2, p. 73-82, 1997.

FERNANDES JÚNIOR, A. *et al.* The antibacterial activity of propolis produced by *Apis mellifera* L. and Brazilian stingless bees. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v. 7, n. 2, p. 1-9, 2001.

FONTANA, J. D. *et al.* Profiling propolis flavonoids by means of micellar electrokinetic capillary chromatography, capillary gas chromatography and bactericidal action.

Chromatographia, Wiesbaden, v. 52, n. 3/4, p. 147-151, 2000.

FRANCO, T. T.; KUREBAYASHI, A. K. Isolamento de princípios ativos da própolis por cromatografia em papel bidimensional e doseamento espectrofotométrico. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 46, n. 1/2, p. 81-86, 1996.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de Própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 171-178, 2006.

GALINDO, A. B. **Caracterização do extrato de própolis vermelha, avaliação de suas propriedades biológicas e desenvolvimento de gel à base do extrato**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

GARCIA, R. C. *et al.* Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre o perfil bioquímico e o desempenho de coelhas jovens. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 57-67, 2004.

GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. **Bee World**, Cardiff, v. 60, p. 59-84, 1979.

GOJMERAC, W. Activities and behavior of the colony as an organism. *In: GOJMERAC, Walter. Bees, Beekeeping, Honey and Pollination.* Old Saybook: Eastern Graphics, Inc., 1980, p. 33.

GREENAWAY, W. *et al.* Identification by Gas Chromatography-Mass Spectrometry of 150 compounds in propolis. **Zeitschrift für Naturforschung C**, Tübingen, v. 46, n. 1-2, p. 111-121, 1991.

HAVSTEEN, B. H. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v. 32, n. 7, p. 1141-1148, 1983.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v. 96, n. 2/3, p. 67-202, 2002.

HELFENBERG, K. D. The analysis of beeswax and propolis. **Chemiker-Zeitung**, Köthen, v. 31, p. 987-998, 1908.

HELLNER, M. *et al.* Apitherapy: usage and experience in German beekeepers. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, v. 5, n. 4, p. 475-479, 2008.

HIGASHI, K. O.; CASTRO, S. L. Propolis extracts are effective against *Trypanosoma cruzi* and have an impact on its interaction with host cells. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 43, p. 149-155, 1994.

IKENO, K. *et al.* Effects of propolis on dental caries in rats. **Caries Research**, Basel, v. 25, n. 5, p. 347-351, 1991.

INOUE, H. T. *et al.* Produção de própolis por diferentes métodos de coleta. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, Maracaibo, v. 15, n. 2, p. 65-69, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário 2006**: Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação: segunda apuração. Rio de Janeiro: IBGE, 2009. 777 p.

INSTITUTO DE PESQUISA ESTRATÉGICA ECONÔMICA DO CEARÁ. **Perfil Básico Municipal**: Caucaia. Fortaleza: IPECE/IBGE, 2005a.

INSTITUTO DE PESQUISA ESTRATÉGICA ECONÔMICA DO CEARÁ **Perfil Básico Municipal**: Limoeiro do Norte. Fortaleza: IPECE/IBGE, 2005b.

INSTITUTO DE PESQUISA ESTRATÉGICA ECONÔMICA DO CEARÁ. **Perfil Básico Municipal**: Maranguape. Fortaleza: IPECE/IBGE, 2005c.

ISHIKAWA, M. *et al.* Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by propolis. **Journal of Pharmacological Sciences**, Tokyo, v. 94, n. 4, p. 129, 2004.

ITICE, N. T. **Uso de própolis em tratamento odontológico para prevenção de cáries e gengivites**. Depositante: Nelson Takeo Itice. BR n. 9503177. Depósito: 10 jul. 1995. Concessão: 10 dez. 1996.

ITO, E. H. *et al.* Uso da própolis em ração de leitões desmamados. **PUBVET**, Londrina, v. 3, n. 4, p. 1-10, 2009.

IVANOVSKA, N. D. *et al.* Immunomodulatory action of propolis. VI. Influence of a water soluble derivative on complement activity *in vivo*. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 47, n. 3, p. 145-147, 1995.

KOO, M. H.; PARK, Y. K. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 61, n. 2, p. 367-369, 1997.

KOO, H. *et al.* Effect of *Apis mellifera* propolis from two Brazilian regions on caries development in desalivated rats. **Caries Research**, Basel, v. 33, n. 5, p. 393-400, 1999.

KOSALEC, I. *et al.* Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products. **Acta Pharmaceutica**, Zagreb, v. 55, p. 423-430, 2005.

KRELL, R. **Value-added products from beekeeping**. 1. ed. Rome: FAO, 1996.

KROL, W. *et al.* Anti-oxidant property of ethanolic extract of propolis (EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. **Biochemistry International**, Sydney, v. 21, n. 4, p. 593-597, 1990.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry**, Barking, v. 84, n. 3, p. 329-339, 2004.

LIMA, M. G. **A produção de própolis no Brasil**. 1. ed. São Paulo: São Sebastião, 2006.

LIMA, A. O. N. **Pólen coletado por abelhas africanizadas em apiário comercial na Caatinga cearense**. 1995. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1995.

LOPES, M. T. R. **Própolis: uma alternativa para diversificar a produção apícola**. [s. l.]: Agrosoft Brasil, 2009. Disponível em: www.agrosoft.org.br/agropag/103753.htm. Acesso em: 3 mar. 2009.

LOPES, R. M. *et al.* Flavonóides. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 3, n. 17, p. 18-22, 2000.

LUSTOSA, S. R. **Padronização de extrato de própolis e avaliação da atividade antimicrobiana**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

LUSTOSA, S. R. *et al.* Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 18, n. 3, p. 447-454, 2008.

MANRIQUE, A. J.; SOARES, A. E. E. Seleção de abelhas africanizadas para produção de própolis. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 20, n. 2, p. 235-246, 2002a.

MANRIQUE, A. J.; SOARES, A. E. E. Início de um programa de seleção de abelhas africanizadas para a melhoria na produção de própolis e seu efeito na produção de mel. **Interciência**, Caracas, v. 27, n. 6, p. 312-316, 2002b.

MARCUCCI, M. C.; BANKOVA, V. Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. **Current Topics in Phytochemistry**, Trivandrum, v. 2, p. 115-123, 1999.

MARCUCCI, M. C. *et al.* Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, Shannon, v. 74, n. 2, p. 105-112, 2001.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, Paris, v. 26, n. 2, p. 83-99, 1995.

MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 5, p. 529-536, 1996.

MARCUCCI, M. C. Propriedades terapêuticas dos constituintes da própolis. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 749-754, 2008.

MARCUCCI, M. C.; WOISKY, R. G.; SALATINO, A. **Uso do cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis**. [s. l.]: Roberg, 2003. Disponível em: www.roberg.com.br/PaginaTrabalhoCientifico06.htm. Acesso em: 10 jul. 2008.

MARKHAM, K. R. HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. **Phytochemistry**, Oxford, v. 42, n. 1, p. 205-211, 1996.

MATSUNO, T. **O efeito terapêutico da própolis**. 1. ed. São Paulo: Imprensa Abaeté, 1997.

MAZZUCO, H. *et al.* Utilização da própolis e álcool etílico no controle de *Salmonella* em rações avícolas. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 53, n. 2-3, p. 329-336, maio/dez. 1996.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 405-411, 2005.

MIZRAHI, A.; LENSKY, Y. (ed.). **Bee products: properties, applications, and apitherapy**. New York: Plenum Press, 1997.

MONTPIED, P. *et al.* Neuroprotective effects of Caffeic acid phenethyl ester on experimental traumatic brain injury in rats. **Molecular Brain Research**, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 49-54, 2003.

MOURA, L. P. P. *et al.* Efeito da solução hidroalcoólica de própolis e robenidina sobre a contagem de oocisto por grama de fezes de *Eimeria* spp. em coelhos Nova Zelândia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 320-325, 1998.

NAGAI, T. *et al.* Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. **Food Chemistry**, Oxford, v. 80, n. 1, p. 29-33, Jan. 2003.

- NEGRI, G.; SALATINO, M. L. F.; SALATINO, A. 'Green propolis': unreported constituents and a novel compound from chloroform extracts. **Journal of Apicultural Research**, Cardiff, v. 42, n. 3, p. 39-41, 2003.
- NOTHENBERG, M. Própolis enfrenta bem o desafio das pesquisas. **Química e Derivados**, São Paulo, v. 348, p. 24-28, 1997.
- NUNES, L. C. C. *et al.* Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 19, n. 2B, p. 524-529, 2009.
- OBREGÓN FUENTES, A.; ROJAS HERNÁNDEZ, N. Antimicrobial action of alcoholic extracts of propolis. **Revista Cubana de Farmacia**, La Habana, v. 24, n. 1, p. 34-44, 1990.
- OLIVEIRA, J. S. *et al.* Efeito da monensina e extrato de própolis sobre a produção de amônia e degradabilidade *in vitro* da proteína bruta de diferentes fontes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 504-510, 2004.
- PARANÁ. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento. **Boletim Dicas & Notícias & Informações Apícolas**: ano I, n. 30, 21 maio 2007. Curitiba: SEAB, 2007. Disponível em: https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/qas/370/api_30.pdf. Acesso em: 19 jan. 2009.
- PARK, Y. K. *et al.* Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 313-318, 1998.
- PARK, Y. K. *et al.* Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 997-1003, 2002.
- PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 9, p. 2502-2506, 2002.
- PARK, Y. K.; FUKUDA, I.; ASHIDA, H. Suppression of dioxin mediated aryl hydrocarbon receptor transformation by ethanolic extracts of propolis. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 68, n. 4, p. 935-940, 2004.
- PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M. Classification of Brazilian propolis by physicochemical methods and biological activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 10, p. 4248-4253, 2000.
- PARK, Y. K.; IKEGAKI, M. Preparation of extracts of propolis and evaluation of the preparations. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 62, n. 11, p. 2230-2232, 1998.
- PASCUAL, C. *et al.* Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v. 41, n. 1-2, p. 9-13, 1994.

PAULA NETO, F. L.; ALMEIDA NETO, R. M. de. **Apicultura nordestina: principais mercados, riscos e oportunidades**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2006.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 251-260, 2002.

PINTO, M. S. *et al.* Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 6, p. 278-283, 2001.

RAMOS, A. F. N. Propolis: a review of its anti-inflammatory and healing actions. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, Botucatu, v. 13, n. 1, p. 697-710, 2007.

RESENDE, R. B.; BORGES, L. F. H. **Exportações março/2008**. Brasília, DF: Coordenação Nacional da Rede APIS/UAGRO/Sebrae Nacional, 2008.

RUSSO, A.; LONGO, R.; VANELLA, A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 73, p. S21-S29, 2002.

SAID, R. A. **Atividade antioxidante de diferentes concentrações dos extratos aquoso e etanólico da própolis, nas intoxicações agudas por acetaminofen, em camundongos**. 2000. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

SALATINO, A. *et al.* Origin and chemical variation of Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, v. 2, n. 1, p. 33-38, 2005.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3. ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2007.

SANTOS, M. A. **Estudo do forrageamento de própolis em abelhas africanizadas, *Apis mellifera* L. 1758**. 1996. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1996.

SAWAYA, A. C. H. F. **Análise da composição química de própolis brasileira por espectrometria de massas**. 2006. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006.

SEELEY, T. D. **Ecologia da abelha: um estudo de adaptação na vida social**. Tradução de Osowski. Porto Alegre: Paixão, 2006.

SFORCIN, J. M.; FUNARI, S. R. C.; NOVELLI, E. L. B. Serum biochemical determinations of propolis-treated rats. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v. 1, n. 1, p. 31-37, 1995.

SFORCIN, J. M. *et al.* Seasonal effect on brazilian propolis antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v. 73, n. 1-2, p. 243-249, 2000.

- SILVA, B. B. *et al.* Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, v. 5, n. 3, p. 313-316, 2008.
- SILVA, R. A. *et al.* Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extrato de própolis da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1842-1848, 2006.
- SIMÕES, L. M. C. *et al.* Effect of Brazilian green propolis on the production of reactive oxygen species by stimulated neutrophils. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v. 94, n. 1, p. 59-69, 2004.
- STRADIOTTI JUNIOR, D. *et al.* Ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* de diferentes alimentos pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 1093-1099, 2004.
- SOUSA, J. P. B. *et al.* Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 85-93, 2007.
- THIMANN, R.; MANRIQUE, A. J. Recolección de propóleos en colonias de abejas africanizadas durante la temporada de lluvias en Guanare, Venezuela. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 20, n. 4, p. 493-499, 2002.
- TOSI, B. *et al.* Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. **Phytotherapy Research**, Chichester, v. 10, n. 4, p. 335-336, 1996.
- TRUSHEVA, B. *et al.* Bioactive constituents of Brazilian red propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, v. 3, n. 2, p. 249-254, 2006.
- VARANDA, E. A. *et al.* Inhibitory effect of propolis and bee venom on the mutagenicity of some direct-and indirect-acting mutagens. **Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis**, New York, v. 19, n. 6, p. 403-413, 1999.
- VARGAS, A. C. *et al.* Atividade antimicrobiana “*in vitro*” de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 159-163, 2004.
- VOLPERT, R.; ELSTNER, N. F. Biochemical activities of propolis extracts: I. Standardization and antioxidative properties of ethanolic and aqueous derivatives. **Zeitschrift für Naturforschung C**, Tübingen, v. 48, n. 11-12, p. 851-857, 1993.
- WALKER, P.; CRANE, E. Constituents of Propolis. **Apidologie**, Paris, v. 18, n. 4, p. 327-334, 1987.
- WARAKOMSKA, Z., MACIEJEWICZ, W. Microscopic analysis of propolis from Polish regions. **Apidologie**, Paris, v. 23, n. 4, p. 277-283, 1992.
- WARTH, A. H. **The Chemistry and Technology of Waxes**. 2. ed. Baltimore: The Waverly Press, 1956.
- WIESE, H. **Apicultura**: novos tempos. Guaíba: Agropecuária, 2005.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, Cardiff, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

WOLLENWEBER, E.; BUCHMANN, S. L. Feral honey bees in the Sonoran Desert: propolis sources other than poplars (*Populus spp.*). **Zeitschrift für Naturforschung C**, Tübingen, v. 52, n. 7-8, p. 530-535, 1997.

WOLLENWEBER, E.; JAY, M. Flavones and flavonols. *In*: HARBORNE, J. B. (ed.). **The flavonoids: advances in research since 1980**. London: Chapman and Hall, 1988. p. 233-302.

YONG Park extrai mais esperança da própolis. **Jornal da Unicamp**, Campinas, 2003. Sala de Imprensa. Disponível em: http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/. Acesso em: 16 out. 2008.

ZUANAZZI, J.A.S. Flavonóides. *In*: SIMÕES, C. M. O. et al. (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2001. p. 499-526.