



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

HESLEN RODRIGUES DA SILVA

**ESTUDOS DE DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DO EXTRATO DE
PRÓPOLIS**

FORTALEZA
2022

HESLEN RODRIGUES DA SILVA

ESTUDOS DE DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DO EXTRATO DE
PRÓPOLIS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada ao Curso de Engenharia Química do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dra. Rílvia Saraiava de Santiago Aguiar.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S58e Silva, Heslen Rodrigues da.
Estudos de diferentes técnicas de extração do extrato de própolis / Heslen Rodrigues da Silva. – 2022.
66 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Curso de Engenharia Química, Fortaleza, 2022.
Orientação: Profa. Dra. Rílvia Saraiava de Santiago Aguiar.
1. Extração de Propolis. 2. Ultrassom. 3. Metodos de Extração. 4. Flavonoides. I. Título.

CDD 660

HESLEN RODRIGUES DA SILVA

ESTUDOS DE DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DO EXTRATO DE
PRÓPOLIS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Engenharia
Química do Departamento de Engenharia
Química da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção
do título de Bacharel em Engenharia
Química.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Rílvia Saraiva de Santiago Aguiar (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Rodrigo Silveira Vieira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Laís Ferreira Oton
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, por todo amor, força,
paciência e perseverança que sempre me
ajudaram a alcançar meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus. Foi Ele que me permitiu chegar até aqui. Toda e qualquer realização minha, eu devo a Ele, pois Ele que me dá forças. A Ele toda honra e toda glória.

Agradeço especialmente aos meus pais, por terem me ajudado a percorrer esse caminho. Por terem me ensinado a nunca desistir, não importa qual seja a dificuldade. São os meus maiores incentivadores desde sempre.

Agradeço também à minha família, pois ao longo dessa estrada, puderam me ajudar de incontáveis maneiras, especialmente minhas tias Ilza e Inez, e meus primos, Amanda, Jênefa, Iran, Simone e Eduardo.

Agradeço aos meus amigos Elenilce, Vera, Thiago e Isabelle por terem demonstrado sua amizade em palavras e ações durante todo esse tempo. Sinto que cada ajuda dada foi de suma importância para mim!

Agradeço também aos colegas e amigos que consegui durante essa jornada, pessoas maravilhosas que dividiram momentos bons e ruins comigo. Compartilhamos conhecimentos e experiências. Sinto que tudo que passamos nos transformará em profissionais melhores.

À Universidade Federal do Ceará quero expressar minha gratidão por ter me proporcionado tantas experiências maravilhosas, tanto aprendizado.

Agradeço aos professores pelos conhecimentos a mim transmitidos, com muita sabedoria e dedicação. Agradeço de forma especial à minha orientadora Rílvia Saraiva de Santiago Aguiar, pela dedicação e paciência.

Que nada nos limite, que nada nos defina,
que nada nos sujeite. Que a liberdade seja
nossa própria substância, já que viver é ser
livre. Porque alguém disse e eu concordo
que o tempo cura, que a mágoa passa, que
decepção não mata. E que a vida sempre,
sempre continua.

Simone de Beauvoir

RESUMO

Para conseguir atender às demandas mercadológicas, torna-se cada vez mais importante conhecer novos métodos de produção para a otimização da extração de própolis. Essas mudanças precisam impactar de maneira positiva não só no tempo de produção como também na qualidade do produto. Em relação ao extrato de própolis, o método mais utilizado atualmente para a realização da sua extração é a maceração. Porém, esse método de extração envolve uma grande quantidade de tempo, geralmente de 3 a 10 dias. Somado à grande quantidade de tempo, é necessário manter uma alta temperatura durante todo o processo de extração, o que encarece a técnica. Enquanto isso, se faz necessário que o extrator em que ocorre a maceração esteja bem vedado para evitar a evaporação de solventes. Dessa forma, o objetivo desse estudo é analisar outra forma de realizar a extração da própolis. O presente estudo tem como foco a extração por ultrassom, visando diminuir o tempo de extração, melhorar o custo de produção e evitar a evaporação de maneira excessiva dos solventes. O estudo foi feito em laboratório, fazendo testes usando as técnicas de maceração e de ultrassom, variando fatores como a quantidade de própolis utilizada, teor de álcool do solvente inicial e tempo do processo. Desse modo, conseguiu-se fazer uma comparação entre os dois tipos de extração. Após realizados os testes, foram feitas algumas análises para efeito comparativo, tais como medição de teor alcoólico, teor de flavonoides e extrato seco. Além dessas análises, também foi feita uma comparação levando em consideração a quantidade de tempo empregada em cada método de extração, bem como a temperatura mantida em cada um deles. Observou-se que os testes utilizando técnica de extração por ultrassom tiveram resultados semelhantes aos testes realizados utilizando a técnica de maceração, porém em tempo bastante inferior.

Palavras-chave: Extração de Propolis; Ultrassom; Metodos de Extração; Flavonoides.

ABSTRACT

In order to meet market demands, it becomes increasingly important to know new production methods for optimizing propolis extraction. These changes need to have a positive impact not only on production time but also on product quality. In relation to the propolis extract, the method most used today to carry out its extraction is maceration. However, this extraction method involves a large amount of time, usually 3 to 10 days. In addition to the large amount of time, it is necessary to maintain a high temperature throughout the extraction process, which makes the technique more expensive. Meanwhile, it is necessary that the extractor in which the maceration takes place is well sealed to avoid evaporation of solvents. Thus, the objective of this study is to analyze another way of performing the extraction of propolis. The present study focuses on ultrasonic extraction, aiming to reduce extraction time, improve production cost and avoid excessive evaporation of solvents. The study was carried out in the laboratory, carrying out tests using maceration and ultrasound techniques, varying factors such as the amount of propolis used, alcohol content of the initial solvent and process time. In this way, it was possible to make a comparison between the two types of extraction. After the tests were carried out, some analyzes were carried out for comparative effect, such as measurement of alcohol content, flavonoid content and dry extract. In addition to these analyses, a comparison was also made taking into account the amount of time used in each extraction method, as well as the temperature maintained in each of them. It was observed that the tests using the ultrasound extraction technique had similar results to the tests performed using the maceration technique, but in a much shorter time.

Keywords: Propolis Extraction, Ultrasound, Extraction Methods, Flavonoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	<i>Apis mellifera</i>	15
Figura 2 -	Dois tipos de armadilhas coletoras e própolis bruta colhida.....	19
Figura 3 -	Estruturas moleculares de marcadores representativos da própolis brasileira e cubana: ácido 3,5-diprenil 4-hidroxicinâmico (1), éster alílico do ácido 3-prenilcinâmico (2), formononetina (3), isoliquiritigenina (4), nemorosona (5a, b).....	20
Figura 4 –	Composto fenólicos da própolis brasileira com atividade antimicrobiana	21
Figura 5 -	Estruturas moleculares de marcadores representativos da geoprópolis brasileira: ácido gálico (6), ácido elágico (7).	22
Figura 6 -	Estruturas moleculares de marcadores representativos de própolis de álamo: crisina (8), galangina (9), pinocembrina (10), pinobanksin-3O-acetato (11), ácido cafeico (12), ácido p-cumárico (13), ferúlico ácido (14), ácido 3,4-dimetoxicafeico (15; DMCA), ácido cafeico prenil (16), benzil (17), feniletil (18; CAPE), ésteres de cinamílico (19).	22
Figura 7 -	Estruturas moleculares do ácido protocatecuico (20) e do kaempferol (21).....	23
Figura 8 -	Estrutura básica dos flavonoides	24
Figura 9 -	Flavonoides encontrados na própolis.....	24
Figura 10 –	Equipamentos Utilizados para realizar extrações e análises	44
Figura 11 -	Erlenmeyers usados para realizar extrações e balões volumétricos para análise de flavonoides.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 12 –	Fluxograma dos passos para a determinação do teor de flavonoides .	46
Figura 13 –	Fluxograma dos passos para a determinação do extrato seco.....	47
Figura 14 –	Extração por maceração comparando a concentração de própolis (10 e 11%) em relação ao extrato seco e quantidade de flavonoides	50
Figura 15 –	Extração por maceração comparando a concentração de própolis (10 e 11%) em relação quantidade de flavonoides	50
Figura 16 -	Comparativo de extrato seco entre extrações por ultrassom com tempos diferentes	52
Figura 17 -	Comparativo de flavonoides entre extrações por ultrassom com tempos diferentes	52

Figura 18 – Comparativo de extrato seco entre extrações por ultrassom com tempos diferentes	54
Figura 19 - Comparativo de extrato seco entre extrações por ultrassom com tempos diferentes.....	55
Figura 20 - Extração por maceração e ultrassom variando a quantidade de própolis	57
Figura 21 - Comparação dos resultados de flavonoides: Maceração x Ultrassom	57
Figura 22 - Comparação dos resultados de Extrato seco: Maceração x Ultrassom.	58
Figura 23 - Comparação dos resultados de Teor Alcoólico ao final da extração: Maceração x Ultrassom	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Principais ácidos fenólicos derivados do ácido benzóico	25
Tabela 2 –	Principais ácidos fenólicos derivados do ácido benzóico	25
Tabela 3 –	Classificação das própolis brasileiras de Abelhas <i>Apis mellifera</i> segundo Yong Park.....	26
Tabela 4 –	Listagem de microrganismos de importância sanitária e econômica que se apresentaram susceptíveis aos efeitos de tratamentos realizados com extratos de própolis	28
Tabela 5 –	Listagem de microrganismos de importância sanitária e econômica que se apresentaram susceptíveis aos efeitos de tratamentos realizados com extratos de própolis (continuação)	29
Tabela 6 –	Relação de algumas propriedades biológicas da própolis em ordem cronológica.....	31
Tabela 7 –	Produtos, embalagem e gramatura	42
Tabela 8 –	Comparativo entre Maceração e Ultrassom	43
Tabela 9 –	Comparativo entre quantidade de própolis utilizada e tempo empregado nas extrações por maceração e ultrassom.	43
Tabela 10 –	Maceração do extrato de própolis a 10% com variação de teor alcoólico do solvente.....	48
Tabela 11 –	Maceração de própolis a 11% com variação de teor alcoólico do solvente.....	49
Tabela 12 –	Extração de própolis a 10% por meio de ultrassom com variação de teor alcoólico do solvente e tempo variando de 90 a 270 minutos.....	51
Tabela 13 –	Extração de própolis a 11% por meio de ultrassom com variação de teor alcoólico do solvente.....	53
Tabela 14 –	Extração por maceração tendo a quantidade de própolis variável.....	56
Tabela 15 –	Extração por ultrassom tendo a quantidade de própolis variável	56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Própolis	15
2.2 História da Própolis	16
2.3 Características da Própolis.....	17
2.4 Tipos de própolis e moléculas-chave	19
2.5 Atividade da própolis	26
2.5.1 Atividade Antioxidante	26
2.5.2 Ação Anti-Inflamatória	27
2.5.3 Atividade Antibiótica	27
2.6 Mercado	30
2.8 Extração	31
2.9 Processo de extração assistido por ultrassom.	36
3 METODOLOGIA	40
3.1 Tipo de estudo.....	40
3.2 Local do estudo	41
3.3 Linhas de produção e seus produtos	41
3.4 Matéria-Prima.....	42
3.5 Extração de própolis.....	42
3.6 Análise dos dados	43
3.6.1 Teor de álcool.....	44
3.6.2 Flavonoides	44
3.6.3 Extrato Seco.....	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1 Testes da Extração com Maceração	48
4.2 Testes da Extração com Ultrassom.....	51
4.3 Comparativo entre os dos métodos de extração	56
5 CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, tem sido realizadas muitas pesquisas sobre diferentes extratos de plantas e produtos naturais, tais como a própolis. Muitos estudos feitos comprovam os efeitos positivos da própolis. Ela possui ação antibacteriana, e por conta disso, muitos a classificam como antibiótico natural. Além de fortalecer o sistema imunológico, ela ajuda no combate aos radicais livres.

O extrato de própolis possui características que ajudam o organismo a conseguir um melhor poder imunológico e a combater as infecções microbianas. Os extratos de própolis possuem aplicação em uma grande variedade de nutracêuticos e cosméticos.

O método mais utilizado para a extração da própolis e produção de seu extrato alcoólico é a maceração. Porém, esse método leva muito tempo, o que pode atrasar bastante a produção.

O objetivo desse estudo é apresentar estratégias para a otimização da extração da própolis, propondo um método diferente para isso, a extração por ultrassom. Propondo a diminuição de tempo empregada e um valor acessível para o consumidor final.

Em relação à divisão dos capítulos, o trabalho está dividido em 6 seções principais, sendo elas:

Seção 1 – Introdução: mostra conceitos iniciais sobre o tema, justificativa do estudo, objetivos e metodologia;

Seção 2 – Revisão Bibliográfica: referencial teórico sobre a própolis, seus benefícios, os estudos realizados, o mercado, o extrato de própolis, sua importância e análises feitas, bem como os métodos de extração: o mais tradicional, a maceração, e o proposto pelo estudo: o ultrassom. Tudo isso visando prover uma boa base para compreensão do estudo de caso;

Seção 3 – Metodologia: apresenta o tipo de estudo, mostra o local da pesquisa e descreve a forma como se coletou e analisou os dados;

Seção 4 – Resultados e discussão: apresenta todos os resultados encontrados durante o estudo de caso, apresentando a produção da empresa, os resultados obtidos durante os testes, fazendo as comparações entre o método utilizada e o método proposto pelo presente estudo;

Seção 5 – Conclusão: são apresentadas as principais conclusões finais do presente estudo, bem como recomendações e sugestões para trabalhos futuros;

Seção 6 – Referências: descritos os principais estudos utilizados durante toda a pesquisa, sendo eles: livros, artigos publicados em revistas, teses e dissertações sobre o tema.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Própolis

A própolis é uma substância resinosa de coloração e resistência variável, produzida pelas abelhas a partir da mistura de substâncias coletadas de diferentes partes das plantas da flora regional, como brotos, botões florais e exsudatos resinosos, com secreções salivares, cera e pólen para a obtenção do produto final. materiais lipofílicos das folhas e dos brotos foliares, mucilagens, gomas, resinas e látex. Além disso, podem ser encontrados na própolis materiais que são introduzidos durante a elaboração dela na colmeia (BREYER, 2016).

As abelhas do gênero *Apis mellifera* (Figura 1) são as mais conhecidas e difundidas entre os apicultores para a produção de própolis e mel.

Figura 1 - *Apis mellifera*



Fonte: Cassino (1999).

Própolis é o nome genérico para a substância resinosa de composição complexa coletada pelas abelhas a partir dos mais heterogêneos tipos de plantas. A palavra "própolis" tem derivação do grego: *pro-* em defesa de, em prol de; e *polis* - cidade. Assim, própolis significa em defesa da cidade, ou seja, da colmeia.

A própolis é utilizada pela abelha para:

- Cobrir frestas e rachaduras da colmeia; reduzir as aberturas de acesso, evitando a entrada de frio, predadores e visitas indesejáveis;
- Revestir os alvéolos antes da postura da rainha, mantendo-os livres de agentes microbianos e patogênicos;

- Embalsamar para mumificar restos de animais dentro da colmeia quando são muito grandes ou pesados para serem retirados, evitando assim a contaminação por agentes patogênicos e sua putrefação;
- Revestir internamente toda a colmeia, funcionando também como isolante térmico.

Devido a isso, é de grande interesse o estudo da própolis.

2.2 História da Própolis

A própolis (CAS Nº. 9009-62-5) se tornou um dos muitos produtos naturais utilizados durante pela humanidade durante os séculos, sendo conhecida desde os tempos remotos. Seu uso já era descrito pelos assírios, gregos, romanos, incas e egípcios. No primeiro texto médico conhecido por "Livro de produção de Medicamentos para todas as partes do Corpo Humano", narrado no papiro de Ebers e escrito há cerca de 1.700 a.C., se faz menção à própolis como produto medicinal. No antigo Egito (1700 A.C.; "cera negra") era utilizada como um dos materiais para embalsamar os mortos ("cera negra") (PEREIRA *et al.*, 2015).

Já na África do Sul, na guerra ao final do século XIX, a própolis foi amplamente utilizada devido às suas propriedades cicatrizantes. Durante a segunda guerra mundial, foi empregada em várias clínicas soviéticas. Na antiga URSS, a própolis se destacou tanto na medicina humana como na veterinária, com aplicações inclusive no tratamento da tuberculose, notando-se a regressão dos problemas pulmonares e recuperação do apetite.

Os gregos a adotaram como cicatrizante interno e externo. Plínio, um famoso historiador romano, refere-se à própolis como medicamento capaz de reduzir inchaços e aliviar dores.

Na metade dos anos 80, a própolis tornou-se um produto importante na medicina complementar. Atualmente, a própolis é comercializada pela indústria farmacêutica como uma medicina alternativa. Desde os anos 80, ela vem sendo largamente utilizada em suplementos alimentares e bebidas, como preventivo de enfermidades e em aplicações tópicas (PEREIRA *et al.*, 2015).

2.3 Características da Própolis

A própolis possui propriedades biológicas valiosas:

- Antibacteriana;
- Antioxidante;
- Anti-inflamatório;
- Antineurodegenerativa;
- Antitumoral;
- Antifúngica;
- Antiprotozoária;
- Antiviral;
- Hepatoprotetor;
- Anestésico local;
- E livre eliminação de radicais.

A própolis, também conhecida como cola de abelha, no que diz respeito à sua coloração, depende de sua procedência (origem botânica), podendo variar desde o verde pardo, castanho, marrom claro ou escuro, negro, amarelado. Ela também apresenta um odor característico que pode variar de uma amostra para outra. Seu ponto de fusão pode variar entre 60 e 70 °C, e em alguns casos, pode chegar em até 100 °C (BASTOS, 2010).

É uma substância rígida, mas quebradiça quando fria e que quando aquecida, se torna maleável. Parece interagir de maneira forte com os óleos e proteínas da pele, e sua remoção da pele humana é difícil. Possui característica elástica, com consistência viscosa, sabor adstringente, acre, por vezes levemente amargo, com cheiro agradável e adocicado (BASTOS, 2010). A composição química é altamente complexa e variada. É intimamente relacionada com a flora da região visitada pelas abelhas para a coleta de material (RODRIGUES, 2017). De forma geral, a composição da própolis consiste em:

- 50 a 60 % de resinas e bálsamos;
- 30 a 40% de ceras;
- 5 a 10 % de óleos essenciais;
- 5 % de grãos de pólen;
- microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês e pequenas quantidades de vitaminas B1, B2, B6, C e E. (LUSTOSA, 2008).

A própolis é considerada uma das misturas mais heterogêneas encontradas

em fontes naturais. Seus mais de 300 constituintes já foram identificados e/ou caracterizados em diferentes amostras de própolis. O maior grupo de compostos presentes na própolis são os flavonóides, que juntamente com os ácidos carboxílicos modificados, são responsáveis pela bioatividade contra vários microorganismos patogênicos (ADELMANN, 2005).

As propriedades biológicas da própolis estão diretamente ligadas à sua composição química. Por conta disso, torna-se o maior problema para o uso da própolis em fitoterapia, pois a composição química varia com a flora da região, partes da planta, e época da colheita, com a técnica empregada, assim como com a espécie da abelha. Este conjunto exerce uma enorme importância nas propriedades físicas, químicas e biológicas (PEREIRA *et al.*, 2015).

No Brasil são notadas tanto propriedades biológicas como composição química distintas para diferentes amostras coletadas em diferentes partes do país. Essa variação é explicada pela grande biodiversidade brasileira, assim como também a habilidade bioquímica das abelhas em alterar a composição nativa ou adicionar componentes próprios à própolis (PEREIRA *et al.*, 2002).

Onde observa-se uma menor variação da composição química da própolis é nas regiões temperadas do planeta, como, por exemplo, na Europa, onde seus principais compostos bioativos são os flavonóides (flavonas, flavonóis e flavanonas). A principal fonte botânica das zonas temperadas é exsudato de broto de espécies de *Populus* e seus híbridos (ADELMANN, 2005). Isso é se dá na Europa, América do Norte e regiões não tropicais da Ásia e Nova Zelândia, onde espécies introduzidas de álamo são fontes botânicas para as abelhas (BANKOVA *et al.*, 2000).

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. Já no Brasil, a coleta de própolis acontece durante todo o ano, deste modo existe uma variação sazonal na composição. Porém, a diminuição em alguns componentes biologicamente ativos como os fenólicos são acompanhados pelo aumento de outros, por exemplo, ácidos diterpênicos. Desta forma, pode-se esperar que algumas atividades biológicas, relacionadas a estes compostos, como antibacteriana e antifúngica, sejam similares em diferentes estações do ano (BASTOS, 2010).

Como já visto, o perfil de moléculas bioativas da própolis bruta varia de acordo com alguns aspectos, tais como: sua origem geográfica e botânica, estação do ano,

genética das abelhas e fatores ambientais. A qualidade e quantidade da própolis coletada depende da diversidade e disponibilidade de plantas, fonte e prazo de coleta, técnicas e práticas dos apicultores, bem como a saúde ambiental.

As armadilhas coletoras especiais colocadas diretamente nas armações e sob o telhado, ou nas laterais de uma colmeia, são métodos de colheita comumente usados que garantem a extração de própolis sem contaminação. As armadilhas são redes de nylon ou plástico com pequenos orifícios que estimulam as abelhas operárias a preencher a armadilha de própolis (Figura 2). A própolis coletada é removida das redes congelando-as ou escovando-as. A matéria-prima é geralmente moída, peneirada e extraída usando solventes como etanol (EtOH), glicol ou água.

O perfil químico dos extratos de própolis também dependerá do tipo de solvente de extração, proporção de solvente e procedimentos de extração.

Figura 2 - Dois tipos de armadilhas coletoras e própolis bruta colhida.



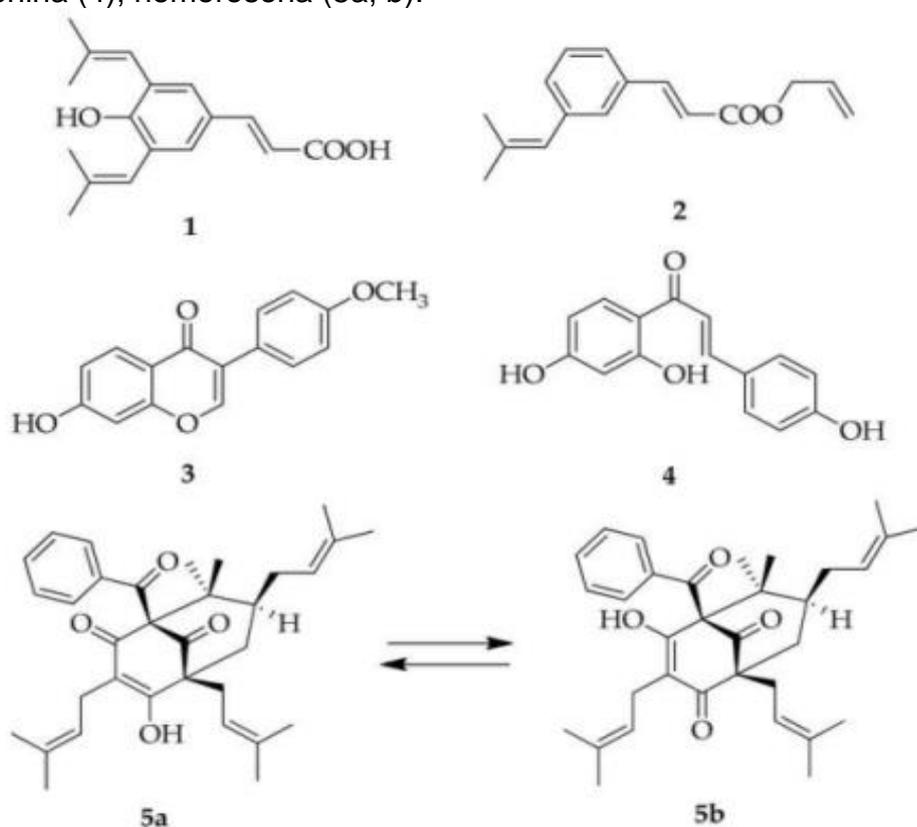
Fonte: Molecules (2021).

2.4 Tipos de própolis e moléculas-chave

O tipo de própolis mais abundante na Europa, Ásia e América do Norte é a própolis de álamo, com origem vegetal de *Populus* spp., principalmente *P. nigra* L. A própolis de álamo é rica em flavonas, flavanonas, ácidos fenólicos e seus ésteres. A própolis de bétula da Rússia também é rica em flavonas e flavonóis, mas de um tipo diferente da própolis de álamo. Nas áreas tropicais, o principal recurso para a própolis verde do Brasil é *Baccharis* spp., especialmente *B. dracunculifolia*.

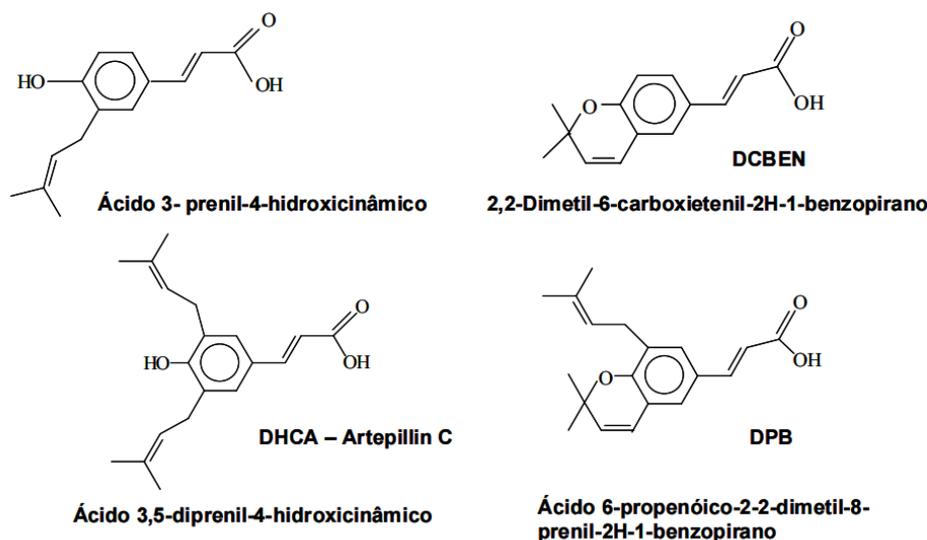
Este tipo é rico em diterpenóides e fenilpropanóides prenilados, como artepillin C (ácido 3,5-diprenil-4- hidroxicinâmico; (1) e éster alílico do ácido 3-prenilcinâmico (2), que são usados como marcadores de própolis verde (Figura 3). A própolis vermelha brasileira é caracterizada pela isoflavona formononetina (3) e isoliquiritigenina (4) (Figura 3). A própolis vermelha cubana é rica em benzofenonas poliisopreniladas como a nemorosona (5a,b) (Figura 3).

Figura 3 - Estruturas moleculares de marcadores representativos da própolis brasileira e cubana: ácido 3,5-diprenil 4-hidroxicinâmico (1), éster alílico do ácido 3-prenilcinâmico (2), formononetina (3), isoliquiritigenina (4), nemorosona (5a, b).



Fonte: Molecules (2021)

Figura 4 – Composto fenólicos da própolis brasileira com atividade antimicrobiana

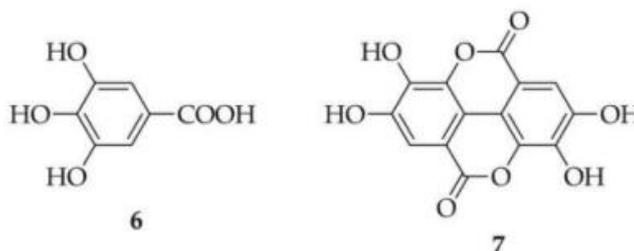


Fonte: Marcucci et al. (2001).

Marcucci et al. (2001) isolaram e identificaram quatro compostos da própolis brasileira, conforme a Figura 4: (1) ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico (PHCA), (2) 2,2-dimetil-6-carboxietenil-2H-1-benzopirano (DCBEN), (3) ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (DHCA), e (4) 2,2-dimetil-6-carboxietenil-8-prenil-2H-1-benzopirano (DPB). Todos os compostos foram testados contra *Trypanosoma cruzi* e as bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus faecalis*. Os compostos de (1) a (3) foram ativos contra *Trypanosoma cruzi* e com exceção do composto (1), todos os compostos apresentaram atividade contra as bactérias testadas.

A geoprópolis é um tipo ligeiramente diferente de cola de abelha, uma mistura de resinas, cera, argila ou solo. Santos et al. (2007) determinaram polifenóis, flavanonas, terpenóides, mas também derivados di- e trigallico e fenilpropanóide heterosídeo em extratos hidroetanólicos de geoprópolis, enquanto os principais compostos fenólicos da geoprópolis do Brasil foram o ácido gálico (6) e elágico (7). (Figura 5).

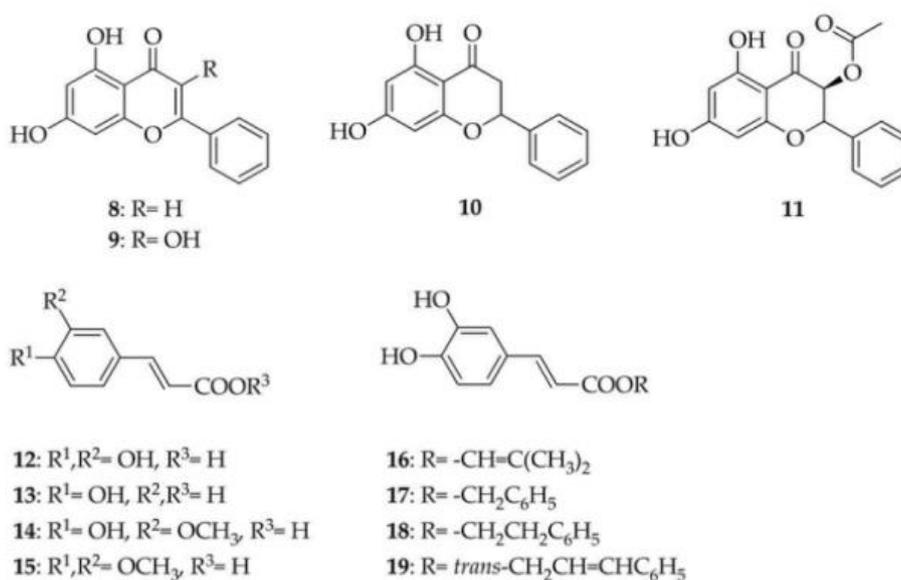
Figura 5 - Estruturas moleculares de marcadores representativos da geoprópolis brasileira: ácido gálico (6), ácido elágico (7).



Fonte: Molecules (2021).

Os flavonóides mais abundantes encontrados em amostras de própolis da Itália foram crisina (8), galangina (9), pinocembrina (10) e pinobanksin-3O-acetato (11). Os ácidos fenólicos mais representativos foram o ácido cafeico (12), ácido p-cumárico (13) e ácido ferúlico (14), assim como seus derivados, ácido 3,4-dimetoxicafeico (15); e ácido cafeico prenil (16), benzil (17), feniletílico (18; CAPE) e cinamílico (19) ésteres (Figura 5). Este tipo de conteúdo de polifenóis é típico da própolis de álamo.

Figura 6 - Estruturas moleculares de marcadores representativos de própolis de álamo: crisina (8), galangina (9), pinocembrina (10), pinobanksin-3O-acetato (11), ácido cafeico (12), ácido p-cumárico (13), ferúlico ácido (14), ácido 3,4-dimetoxicafeico (15; DMCA), ácido cafeico prenil (16), benzil (17), feniletil (18; CAPE), ésteres de cinamílico (19).



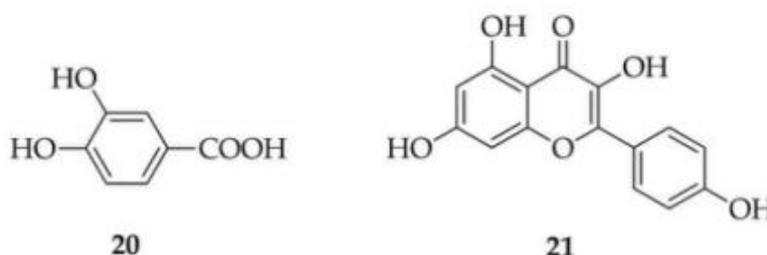
Fonte: Molecules (2021).

Devido a tantos tipos de própolis com diferentes moléculas bioativas, Bankova (2005) propôs a padronização de acordo com a origem botânica e o perfil químico

correspondente. Para própolis do tipo álamo, marcadores representativos mencionados anteriormente podem ser usados para identificação e padronização do extrato de própolis do tipo álamo. A presença de marcadores em concentrações relevantes deve ser usada apenas para padronização e não como medida direta de atividade, pois é impossível atribuir a atividade de uma mistura complexa a poucos componentes.

Os polifenóis são metabólitos secundários de plantas com um papel essencial na resposta a estressores bióticos (patógenos de plantas, herbívoros) e condições de estresse abiótico, como seca e frio. Com base em sua estrutura molecular, eles podem ser divididos em flavonóides e não flavonóides. Flavona crisina, flavonol galangina e flavanona pinocembrina são flavonóides, enquanto os não flavonoides mais abundantes são ácidos fenólicos subdivididos em derivados do ácido benzóico, como ácido gálico (**6**) (Figura 3), ácido protocatecuico (**20**) (Figura 6) e derivados de ácido cinâmico: ácidos cafeico (**12**), p-cumárico (**13**) e ferúlico (**14**) (Figura 4).

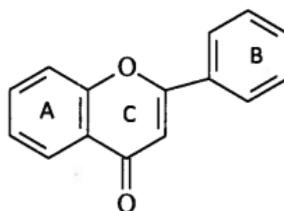
Figura 7 - Estruturas moleculares do ácido protocatecuico (20) e do kaempferol (21).



Fonte: Molecules (2021).

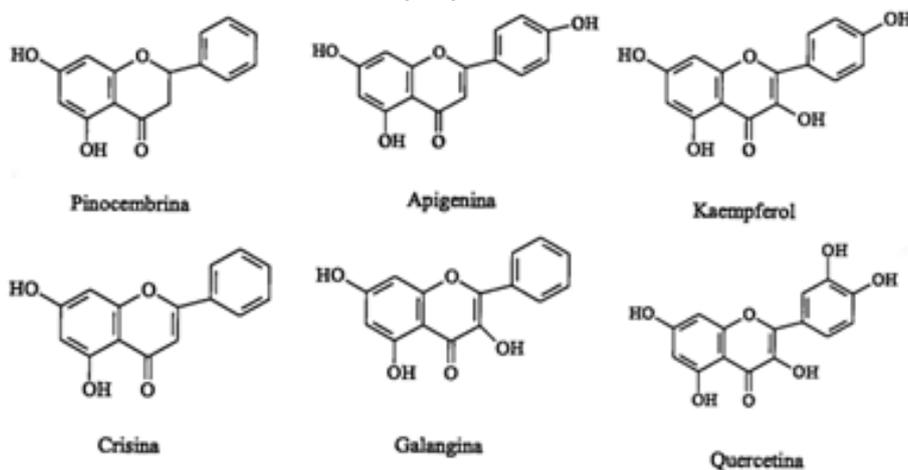
Os compostos fenólicos são substâncias que apresentam um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila. Os flavonoides são uma das classes de compostos fenólicos e possuem uma estrutura básica constituída de 15 átomos de carbono dispostos em uma configuração C6-C3-C6, onde os dois anéis C6 são aromáticos (anéis A e B) e são conectados por uma ponte de três carbonos que geralmente possuem um átomo de oxigênio (anel C) (Figura 8).

Figura 8 - Estrutura básica dos flavonoides



Fonte: Buriol, 2008.

Figura 9 - Flavonoides encontrados na própolis

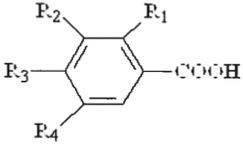


Fonte: Buriol, 2008.

Os flavonoides pinocembrina, apigenina, galangina, crisina, quercetina e kaempferol são comumente encontrados na própolis (Figura 9).

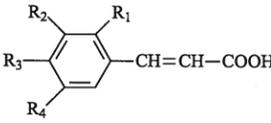
Os ácidos fenólicos também pertencem ao grupo dos compostos fenólicos e são caracterizados por possuir um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos hidroxilas e/ou metoxila na molécula. Eles são divididos formalmente em derivados do ácido benzóico (Tabela 1), como o ácido gálico e derivados do ácido cinâmico (Tabela 2) como o ácido p-cumarico. Os ácidos fenólicos possuem atividade antioxidante. Essa atividade antioxidante é geralmente determinada pelo número de hidroxilas presentes na molécula e também com a proximidade do grupo $-CO_2H$ com o grupo fenil. Quanto mais próximo esse grupo estiver do grupo fenil maior será a capacidade antioxidante do grupo hidroxila na posição meta.

Tabela 1 – Principais ácidos fenólicos derivados do ácido benzóico

Derivados do Ácido Benzóico	Substituintes
	R ₁ = OH (Ácido Salicílico)
	R ₁ = R ₄ = OH (Ácido Gentísico)
	R ₃ = OH (Ácido p - hidroxibenzóico)
	R ₂ = R ₃ = OH (Ácido Protocatequínico)
	R ₂ = OCH ₃ ; R ₃ = OH (Ácido Vanílico)
	R ₂ = R ₃ = R ₄ = OH (Ácido Gálico)
	R ₂ = R ₄ = OCH ₃ ; R ₃ = OH (Ácido Siríngico)

Fonte: Buriol, 2008.

Tabela 2 – Principais ácidos fenólicos derivados do ácido benzóico

Derivados do Ácido Cinâmico	Substituintes
	R ₁ = R ₂ = R ₃ = R ₄ = H (Ácido cinâmico)
	R ₁ = OH (Ácido o- cumárico)
	R ₂ = OH (Ácido m- cumárico)
	R ₃ = OH (Ácido p- cumárico)
	R ₂ = R ₃ = OH (Ácido Caféico)
	R ₂ = OCH ₃ ; R ₃ = OH (Ácido Ferúlico)
	R ₂ = R ₄ = OCH ₃ ; R ₃ = OH (Ácido Sinápico)

Fonte: Buriol, 2008.

Recentemente a própolis brasileira foi classificada em 12 tipos (Tabela 3) de acordo com a composição química e as atividades biológicas. Cinco tipos são provenientes da região sul, um proveniente do sudeste e centro-oeste, e seis provenientes do nordeste. Os tipos que apresentaram melhor atividade microbiana foram G3, G6 e G12. Um novo tipo de própolis proveniente da região de mangue do estado do Alagoas, cuja origem botânica é a leguminosa *Dalbergia ecastophyllum*, conhecida popularmente como rabo de bugio devido a sua coloração vermelha intensa, foi classificada como 13º tipo de própolis brasileira e vem demonstrando várias atividades biológicas. Essa classificação é constantemente atualizada conforme estudos identificam novos tipos de própolis.

Tabela 3 – Classificação das própolis brasileiras de Abelhas *Apis mellifera* segundo Yong Park

Extrato Etanólico de Própolis			
Tipos	Cor	Substâncias Solúveis (%)	Origem da própolis
G1 (RS5)	Amarelo	63,0	Região Sul
G2 (RS1)	Castanho Claro	57,5	Região Sul
G3 (PR7)	Castanho Escuro	65,0	Região Sul
G4 (PR8)	Castanho Claro	54,5	Região Sul
G5 (PR9)	Marrom Esverdeado	58,7	Região Sul
G6 (BA11)	Marrom avermelhado	45,9	Região Nordeste
G7 (BA51)	Marrom esverdeado	43,8	Região Nordeste
G8 (PE5)	Castanho Escuro	41,3	Região Nordeste
G9 (PE3)	Amarelo	46,7	Região Nordeste
G10 (CE3)	Amarelo Escuro	24,1	Região Nordeste
G11 (PI1)	Amarelo	23,1	Região Nordeste
G12 (SP12)	Verde ou Marrom Esverdeado	61,0	Região Sudeste

Fonte: PARK et. al., 2000. [20]

2.5 Atividade da própolis

2.5.1 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante é um parâmetro utilizado separadamente ou em conjunto com outros para caracterizar diferentes materiais biológicos. Esta atividade está relacionada com compostos capazes de proteger um sistema biológico contra os efeitos danosos de processos ou reações que causam oxidação excessiva (ADELMANN, 2005).

Pesquisas relacionadas com própolis tem se mostrado muito importantes devido seu amplo espectro de efeitos, incluindo suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas, antivirais e anti-inflamatórias (PEREIRA, 2015).

A ocorrência de diversas doenças está relacionada a aumentos nos níveis de radicais livres em nosso organismo, tais como: doenças cardiovasculares; doenças reumáticas; doenças neurológicas; doenças psiquiátricas; envelhecimento precoce; neoplasias; osteoporose; diabetes e inflamação (PEREIRA, 2015).

Além dos polifenóis, a própolis contém uma extensa gama de outros compostos com a propriedade de remover esses radicais livres em excesso de nosso organismo (MARQUELE *et al.*, 2005). Diversos grupos de pesquisadores têm relatado

essa propriedade da própolis, e muitos deles chegaram a isolar diversos compostos que seriam os responsáveis por essa propriedade antioxidativa. Estes grupos de pesquisadores são unânimes em atribuir aos flavonóides, principalmente ao éster fenólico do ácido caféico, esta propriedade farmacológica.

2.5.2 Ação Anti-Inflamatória

Algumas substâncias conhecidas por sua capacidade de inibir a inflamação como ácido salicílico, apigenina, ácido felúrico e galangina, foram identificadas na própolis por Krol *et al.* (1996).

Mirzoeva e Calder (1996) indicaram ácido cafeico, quercetina e narigenina, como principais responsáveis pela propriedade anti-inflamatória. Observaram, supressão de prostaglandinas e leucotrienos de macrófagos peritoniais de ratos, após peritonite aguda induzida.

A própolis possui propriedades anti-inflamatórias que foram descritas principalmente contra doenças do sistema muscular articular e outros tipos de inflamações, infecções, reumatismos e torções (PEREIRA, 2015).

2.5.3 Atividade Antibiótica

No Brasil, a diversidade de plantas medicinais utilizadas como forma alternativa, tem estimulado os estudos para o isolamento de seus princípios ativos e isto tem comprovado as atividades antimicrobianas relatadas (PEREIRA, 2015).

As características fitoterápicas da maioria das plantas medicinais estão relacionadas ao controle de processos inflamatórios e micoses.

A primeira publicação nacional sobre a atividade biológica da própolis tratou de um estudo comparativo do efeito do extrato de própolis e antibióticos na inibição da bactéria *Gram-positiva Staphylococcus aureus* (ADELMANN, 2005).

A ação antibiótica da própolis tem sido amplamente investigada e depende do solvente utilizado para preparar o extrato, sendo que os mais utilizados são os extratos etanólicos de própolis (PEREIRA, 2015).

Alguns pesquisadores relatam a viabilidade do extrato oleoso de própolis que foi capaz de extrair substâncias bioativas responsáveis por atividade antibiótica e citotóxica e que conserva as características organolépticas da própolis (PEREIRA,

2015).

Uma técnica de higienização alternativa dos alimentos pode envolver o uso da própolis. De fato, este produto tem chamado atenção nos últimos anos com sua provável utilidade na indústria alimentícia, bebidas e suplementos nutricionais, já que tem apresentado potencial tanto bacteriostático quanto bactericida (PEREIRA, 2015).

De acordo com alguns pesquisadores, a própolis possui ação sinérgica de seus componentes bastante relevante, podendo se constituir como alternativa terapêutica para a resistência microbiana, porém dependente de sua composição (PEREIRA, 2015).

Tabela 4 - Listagem de microrganismos de importância sanitária e econômica que se apresentaram susceptíveis aos efeitos de tratamentos realizados com extratos de própolis

BACTÉRIA	IMPORTANCIA	FONTE BIBLIOGRÁFICA
<i>Aerobacter aerogenes</i>	Infecções nosocomiais; infecções oportunistas	Adelmann, (2005)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Patógeno grave de nozes, uva para vinhos, frutas, beterraba, rabanete	Bianchini; Bedendo, (1998); Basim <i>et al.</i> (2006)
<i>Alcaligenes sp.</i>	Septicemia hospitalar em pacientes imunocomprometidos	Adelmann, (2005)
<i>Bacillus brevis</i>	Oxida monóxido de carbono aerobicamente; raramente associado a doenças infecciosas	Adelmann, (2005)
<i>Bacillus cereus</i>	Compete com outros microrganismos, tais como a <i>Salmonella</i> e a <i>Campylobacter</i> no intestino; Causa intoxicação alimentar	Adelmann, (2005)
<i>Bacillus megatherium</i>	Solubiliza fosfatos naturais existentes no solo, disponibilizando o fósforo para as plantas cultivadas	Adelmann, (2005)
<i>Bacillus polymyxa</i>	Produção de exopolissacarídeos que protegem as plantas contra agentes patogênicos	Adelmann, (2005)
<i>Bacillus pumilus</i>	Inibi o crescimento de patógenos marinhos em crustáceos	Adelmann, (2005)
<i>Bacillus sphaericus</i>	Bactéria usada como larvicida no controle de mosquitos	Adelmann, (2005)
<i>Bacillus subtilis</i>	Não patogênico	Adelmann, (2005)
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Pertússis ou coqueluche	Adelmann, (2005)
<i>Branhamella catarrhalis</i>	Meningite, Pericardite e pneumonia	Langoni <i>et al.</i> , (1994); Fernandes JR. <i>et al.</i> , (1995, 1997); Nieva Moreno <i>et al.</i> , (1999);
<i>Cellulomas fimi</i>	Conversão de celulose em glicose	Adelmann, (2005)
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	Apodrece o tecido vascular dentro de tubérculos de batata	Bianchini; Bedendo (1998)

<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	Infecção vascular invadindo os vasos do xilema obstruindo-os; provoca a podridão anelar da batata	Piermann <i>et al.</i> (2007); Zignago Paulo, <i>et al.</i> (2010)
<i>Escherichia coli</i>	Gastroenterites; Apendicite; meningite; Septicemia	Castaldo; Capasso (2002); Langoni <i>et al.</i> (1996); Pinto <i>et al.</i> (2001, 2003); Franesi (2007)
<i>Enterococcus faecalis</i>	Infecção urinária, meningite e bacteriemia	Lu <i>et al.</i> , (2005); Marcucci <i>et al.</i> , (2001); Oliveira <i>et al.</i> , (2006); Packer, Luz, (2007)
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	Manchas de aparência aquosa e amolecimento dos tecidos circundantes; ataca todas as partes da planta	Piermann <i>et al.</i> (2007)
<i>Helicobacter pylori</i>	Gastrite	Banskota <i>et al.</i> (2001); Boyanova <i>et al.</i> (2005)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bactéria hospitalar, potencializada em	Castaldo; Capasso (2002)

ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido, V. 11, n. 2, p. 01-21, abr – jun, 2015

Histórico e principais usos da própolis apícola

	hospedeiros com baixa imunidade	
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Produção de ácido láctico em embutidos fermentados	Adelmann, (2005)
<i>Micrococcus luteus</i>	Bactéria hospitalar, potencializada em hospedeiros com baixa imunidade	Franesi (2007)

Fonte: Pereira *et al.*, 2015.

Na Tabela 4 e 5 são listadas algumas espécies de microrganismos de importância econômica para os reinos vegetal e animal, citados em artigos científicos como susceptíveis à ação antibiótica de extratos de própolis de diferentes regiões do globo.

Tabela 5 - Listagem de microrganismos de importância sanitária e econômica que se apresentaram susceptíveis aos efeitos de tratamentos realizados com extratos de própolis (continuação)

<i>Nocardia globerula</i>	Síntese orgânica: actividade de nitrilo-degradantes	Adelmann, (2005)
<i>Pasteurella multocida</i>	Infecções enzoóticas em humanos e animais	Garcia <i>et al.</i> , (2004)
<i>Proteus mirabilis</i>	Infecção urinária	Vargas <i>et al.</i> (2004)
<i>Proteus vulgaris</i>	Infecções do tracto urinário	Adelmann, 2005; Castaldo e Capasso (2002)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactéria hospitalar, potencializada em hospedeiros com baixa imunidade	Lu <i>et al.</i> , (2005); Marcucci <i>et al.</i> , (2001); Oliveira <i>et al.</i> , (2006); Packer, Luz, (2007)
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	Pode infectar uma grande variedade de espécies, e existe como mais de 50 diferentes patovares	Basim <i>et al.</i> (2006_a); Piermann <i>et al.</i> (2007)
<i>Pseudomonas corrugata</i>	Causa a necrose da medula em tomate	Basim <i>et al.</i> (2006_a); Piermann <i>et al.</i> (2007)
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>	Provoca a areola do feijoeiro	Basim <i>et al.</i> (2006_a)
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	Ataca um grande numero de plantas; formação nodulos é induzida por ácido indolacético durante a biossíntese pela bactéria	Basim <i>et al.</i> (2006_a)
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Murcha bacteriana do tomateiro	Basim <i>et al.</i> (2006_b)
<i>Rhodococcus equi</i>	Pneumonia necrotizante	Vargas <i>et al.</i> (2004)
<i>Salmonella</i> sp.	Infecções sistêmicas; febre tifóide; gastroenterite	Orsi <i>et al.</i> , (2005); Vargas <i>et al.</i> (2004)
<i>Salmonella typhimurium</i>	Fermentadora de lactose	Daugsh, (2007)
<i>Sarcina lutea</i>	Flora da pele de mamíferos; responsáveis pelo o odor corporal	Adelmann, (2005)
<i>Serratia marcescens</i>	Infecções hospitalares e urinárias	Rojas, (1989); Grange; Davey, (1990); Nieva Moreno <i>et al.</i> , (1999)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Endocardite; Osteomielite; Pneumonia	Marcucci <i>et al.</i> , (2001);
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Faringite; celulite; Fasciite necrosante	Lu <i>et al.</i> , (2005); Marcucci <i>et al.</i> , (2001); Oliveira <i>et al.</i> , (2006); Packer, Luz, (2007)
<i>Streptococcus mutans</i>	Desenvolvimento de caries	Adelmann, (2005)

<i>Streptococcus pyogenes</i>	Faringite; celulite; Fasciite necrosante	Lu <i>et al.</i> , (2005); Marcucci <i>et al.</i> , (2001); Oliveira <i>et al.</i> , (2006); Packer, Luz, (2007)
<i>Streptococcus mutans</i>	Desenvolvimento de caries	Adelmann, (2005)
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	Mancha oleosa do maracujazeiro	Lacerda, <i>et al.</i> (2012); Santana de Oliveira <i>et al.</i> (2013)
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>	Crestamento bacteriano do feijoeiro	Baldin, <i>et. al.</i> 2014; Piermann <i>et al.</i> (2007)
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i>	Necroses em folhas e frutos de <i>Solanaceae</i> s	Basim <i>et al.</i> (2006__b)
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	Mancha foliar bacteriana do tomateiro	Piermann <i>et al.</i> (2007)
<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>ondulosa</i>	Mancha foliar bacteriana	Piermann <i>et al.</i> (2007)
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestres</i>	Podridão negra de <i>Cruciferaeae</i> ; lesões necróticas que se estende desde as margens da folha e escurecimento dos tecidos vasculares	Piermann <i>et al.</i> (2007)
FUNGO	IMPORTANCIA	FONTE BIBLIOGRÁFICA
<i>Aspergillus flavus</i>	Infecções oportunistas como a aspergilose (colonização das vias e do trato respiratório) e alergias respiratórias.	Ghaly <i>et al.</i> (1998)
<i>Candida tropicalis</i>	Candidíase	Sforcin <i>et al.</i> , (2001)
<i>Cândida albicans</i>	Candidíase	Sforcin <i>et al.</i> , (2001)
<i>Geothrichum candidum</i>	Infecções pulmonares ou bronco pulmonares	Grange; Davey, (1990); Fernandes JR. <i>et al.</i> , (1995, 1997); Tosi <i>et al.</i> , (1996); Nieva Moreno <i>et al.</i> , (1999);
<i>Micrococcus lysodeikticus</i>	Flora da pele de mamíferos	Adelmann, (2005)
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Dermatofitoses no couro cabeludo	Siqueira (2008)
<i>Trichopyton rubrum</i>	Causador de dermatomicoses superficiais	Franesi (2007)
<i>Trichophyton tonsurans</i>	Fungo dermatófito	Siqueira (2008)
ALGA	IMPORTANCIA	FONTE BIBLIOGRÁFICA
<i>Prototheca zopfii</i>	Mastite bovina	Tosi <i>et al.</i> , (1996); Nieva Moreno <i>et al.</i> , (1999); Kujungiev <i>et al.</i> , (1999)

Fonte: Pereira et al., 2015.

2.6 Mercado

Em 2020, a própolis no Brasil teve uma grande valorização em decorrência da demanda crescente para todos os tipos de própolis, o que provavelmente teve relação com a crença de que os produtos à base de própolis podem ajudar no tratamento da COVID 19. A exportação cresceu cerca de 30% desde 2019, no início da pandemia.

A partir disso, a produção de própolis no estado de Minas Gerais foi estimada entre 80 e 100 toneladas por ano, correspondendo a 90% da produção nacional. Também houve um aumento da procura por própolis no mercado nacional. Somente considerando o estado de Minas Gerais, o aumento girou em torno de 30%, e ao observar a região Nordeste, o aumento chegou a ficar entre 250 e 300%. A raspa da própolis passou de R\$ 70,00 para R\$ 250,00.

O mercado global de própolis foi avaliado em 607,10 milhões de dólares em 2020 e deve registrar uma taxa de crescimento 5,48% durante os anos de 2021 a 2026.

A própolis da Região Sudeste do Brasil é a própolis mais bem cotada no mercado internacional, principalmente a própolis verde cuja origem botânica é a planta *Baccharis dracunculifolia*, conhecida popularmente como alecrim-do-campo. Os

principais componentes da própolis verde são os fenilpropanóides prenilados, que são ácidos fenólicos contendo um grupo prenila. Essas substâncias são formadas a partir do ácido cinâmico e seus derivados (ácidos p-cumárico, caféico, fenílico e sinápico), como a artemillin C (ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico), marcador químico da própolis verde, sendo a substância majoritária.

No Brasil a própolis é comercializada principalmente sobre a forma de extratos alcoólicos e aquosos e são encontrados mais comumente extratos da própolis verde (de maior valor comercial) e outros sem denominações. Os produtos apícolas são registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e apresentam legislações específicas. Para assegurar a qualidade da própolis tanto na forma bruta quanto na forma de extrato utilizam-se as normas do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Própolis.

2.8 Extração

2.8.1 Métodos de análise de extratos de própolis

Nas análises corriqueiras de controle de qualidade, os flavonóides totais expressos em quercetina têm sido usualmente identificados por espectrofotometria no UV através da reação com o cloreto de alumínio. Esta técnica para a identificação de flavonóides totais em própolis (Savi *et al.*, 2017) foi adaptada das análises de flavonóides em plantas, onde normalmente se encontra a quercetina. Estas substâncias absorvem radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) e do visível. O uso do complexante cloreto de alumínio ($AlCl_3$) no diagnóstico da presença de alguns grupamentos químicos foi feito pela primeira vez empregando-se antocianinas. Trata-se de um pigmento cuja estrutura química pertence ao grupo dos flavonóides, encontrado principalmente em flores, mas muitas vezes, também, em frutos, com uma coloração de vermelho a azul, com variações intermediárias. O cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonóides em metanol, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de ondas e uma intensificação da absorção. Desta maneira, é possível determinar a quantidade de flavonóides, impedindo-se a interferência das outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos presentes na própolis. A leitura é feita em espectrofotômetro a 425 nm, utilizando-se uma solução de cloreto de alumínio. Nestas condições o complexo Flavonóide-Alumínio absorve em comprimentos de ondas

maiores do que o flavonóide sem a presença do complexante.

Aspectos como qualidade e composição dos produtos fitoterápicos estão fundamentalmente relacionados com a técnica de extração empregada na preparação dos extratos de produtos naturais. O procedimento de extração é determinado pela família de compostos a ser extraída e se o objetivo é quantitativo ou qualitativo. Compostos polares como os ácidos fenólicos são geralmente extraídos utilizando água, etanol ou uma mistura de água e etanol (OLIVEIRA, 2010).

A extração de substâncias pode ser realizada de diferentes maneiras, a qual envolve normalmente uma extração simples, quando a amostra é deixada em contato com o solvente a frio por um tempo determinado, com ou sem agitação, ou por uma extração exaustiva, que utiliza um aparelho com solvente aquecido, passando continuamente através da amostra (PEREIRA, 2008).

A extração de substâncias biologicamente ativas pode ser realizada através de técnicas convencionais de extração como a maceração e a extração Soxhlet. Nestas extrações são utilizados diversos tipos de solventes como álcoois metílico, etílico e propílico; hexano; clorofórmio; acetato de etila; acetona; entre outros. Estas técnicas são comumente aplicadas nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos para a produção de extratos diversos.

A maneira mais comum para se extrair os princípios ativos da própolis bruta é por extração simples, conhecida como maceração. O tempo de contato da própolis bruta com o solvente pode variar de semanas a meses, com ou sem agitação, à temperatura ambiente ou não.

Na literatura são reportadas diferentes técnicas de extração para a obtenção de extratos de própolis, como a extração soxhlet e maceração, sendo que esta última é a técnica mais utilizada. Os procedimentos adotados em cada trabalho visam objetivos diferentes, tais como avaliação de atividades biológicas, de rendimento, de origem botânica entre outros.

Cunha et al. (2004) avaliaram os fatores que influenciam no rendimento e composição dos extratos de própolis verde da região sudeste do Brasil. A maceração foi realizada utilizando etanol absoluto e diluído a 70 %, 50 % e 30 % (v/v) com água destilada, além de álcool comercial de cereais (96° GL), por períodos de 7, 10, 20 e 30 dias, com e sem luz. Na extração soxhlet foi utilizado etanol absoluto e água destilada como solventes por um período de 24 h a 60 °C. O rendimento do extrato de própolis aumentou com o conteúdo etanólico no solvente sendo que, este aumento estabilizou

usando solventes com 70 % ou mais de etanol. O uso da extração soxhlet diminuiu o tempo de extração e aumentou o rendimento.

Park e Ikegaki (1998) obtiveram extratos de própolis do estado de Minas Gerais no Brasil através da maceração, utilizando misturas de água destilada e etanol contendo de 0 a 95% (v/v) de etanol, com agitação a 70 °C por 30 min. Os extratos foram avaliados em termos de atividade antioxidante, antimicrobiana e inibição da atividade da hialuronidase. Os extratos obtidos com 60 a 80 % de etanol apresentaram os melhores resultados de atividade antioxidante e antimicrobiana.

Sforcin et al. (2000) utilizaram a maceração de 30 g de própolis em 100 mL de álcool etílico 95° GL, com agitação moderada, à temperatura ambiente, por uma semana. Os extratos foram utilizados para avaliar o efeito da sazonalidade na atividade antibacteriana da própolis brasileira.

Kumazawa et al. (2004) utilizaram a maceração com etanol absoluto à temperatura ambiente por um período de 24 h para obter EEP de várias origens geográficas. Os extratos foram avaliados em termos de atividade antioxidante, conteúdo de fenólicos totais e flavonoides.

Nagai et al. (2003) obtiveram extratos aquosos de própolis brasileira através de maceração de 50 g de própolis com 5 volumes de água destilada, com agitação a 20 °C por 24 horas. Foram determinados a atividade antioxidante e o efeito contra os radicais livre ânion superóxido, hidroxil e DPPH dos extratos obtidos.

Park et al. (2002) extraíram 2 g de própolis com 15 mL de etanol 80 % (v/v), a 70 °C por 30 min. e sob agitação constante para obter EEP do sul do Brasil, Argentina e Uruguai. Os extratos foram utilizados para determinar evidências fitoquímicas da origem vegetal das própolis analisadas.

Banskota et al. (2000) extraíram própolis de diversas origens com água a 80 °C por 3h. Após a filtração o filtrado foi liofilizado resultando no extrato aquoso e o resíduo foi novamente extraído com metanol em refluxo por 3 h para obter o extrato metanólico. Os extratos foram utilizados para determinar a atividade sequestrante do radical DPPH, atividade citotóxica e hepatoprotectiva.

Novas formas de extração foram examinadas. Maceração e a extração Soxhlet estão entre os métodos tradicionais utilizados durante a extração de algum composto encontrado em própolis. Uma vez que a aplicação de métodos tradicionais de extração possui algumas propriedades como tempo de extração, alto custo de extração, grande quantidade de evaporação do solvente, necessidade de alta temperatura de

aplicação e instabilidade de alguns compostos (compostos aromáticos), novos métodos mais promissores têm sido propostos.

Essas novas aplicações incluem extração de fluido supercrítico, extração assistida por ultrassom, extração assistida por alta pressão e aplicações de extração assistida por micro-ondas. A maioria desses métodos de extração apresenta vantagens promissoras, como encurtar o longo tempo de extração, diminuir o custo de produção, evitar evaporação excessiva de solventes e permitir a estabilidade de compostos afetados por temperaturas. Desta forma, importantes compostos de própolis (compostos fenólicos) tornam-se estáveis durante o processamento e se observa os efeitos positivos na saúde humana (antioxidantes, propriedades antimicrobianas e antivirais).

A maceração é o método mais antigo usado para extração de compostos ativos de materiais vegetais usando diferentes líquidos de imersão.

As extrações assistidas por ultrassom são brevemente realizadas com base nos efeitos mecânicos da cavitação. O método de extração assistida por micro-ondas é realizado brevemente aquecendo o solvente com o efeito do calor e a aderência do material extraível ao solvente. Alguns pesquisadores determinaram que este método reduz o tempo de extração graças ao rápido aquecimento do solvente. Além disso, a extração assistida por micro-ondas reduziu significativamente o tempo de extração em comparação com a extração assistida por ultrassom e maceração. No entanto, a aplicação ultrassônica é realizada com menos calor do que a de micro-ondas, uma vez que fornece uma grande quantidade de energia na forma de estado térmico final. Trusheva e coautores relataram que extrações assistidas por ultrassom e micro-ondas encurtam significativamente o tempo de extração em comparação com os métodos tradicionais de extração, proporcionando uma menor quantidade de custo de energia e permitiu o uso de menos solvente nas extrações. No mesmo estudo, obtiveram resultados bem-sucedidos relacionados à extração de própolis com extração assistida por ultrassom por 30 minutos. Em outros estudos, os efeitos dessas técnicas foram avaliadas, levando a resultados diferentes. Assim, a avaliação de diferentes métodos de extração em diferentes condições e solventes usados são necessários para maximizar os compostos bioativos de própolis. A avaliação desses métodos foi em diferentes condições e seus efeitos sobre a própolis são requeridos.

A extração assistida por ultrassom uma técnica inovadora, considerada “tecnologia limpa” que ganhou interesse nos últimos anos devido às suas excelentes vantagens em comparação com as técnicas convencionais, incluindo o uso de baixos

volumes de solvente, tempos de extração curtos, poucos requisitos instrumentais e baixos impactos econômicos e ambientais. Essa técnica emprega ondas ultrassônicas, que apresentam frequências entre 20 kHz e 10 MHz, encontrado entre as ondas audíveis e as faixas de micro-ondas. Dentro da faixa de ultrassom, duas regiões podem ser encontradas, a saber: (i) ultrassom de potência (20-100 kHz), caracterizada por alta intensidade, utilizada para aplicações de extração e processamento; e (ii) sinal ou ultrassom-diagnóstico (100 kHz-10 MHz), empregado como técnica de diagnóstico clínico, e para controle e avaliação de qualidade.

Se trata de uma técnica de extração rápida e eficaz que usa ultrassom para gerar movimento rápido de solventes, resultando em uma maior velocidade de transferência de massa, bem como aceleração da extração. Comparado a outras técnicas avançadas de extração, as extrações por ultrassom são mais econômicas, ecologicamente correto e conveniente (TENG et al., 2016). As declarações foram apoiadas por Boateng & Lee, 2013 onde é relatado que as extrações por ultrassom são uma técnica simples e rápida, que consome menos energia, tempo e materiais, produzindo assim produtos mais puros com maiores rendimentos (BOATENG; LEE, 2013).

Essa técnica pode ser realizada sob baixa temperatura de operação onde pode evitar danos térmicos aos extratos e preserva as propriedades dos compostos bioativos em termos de sua estrutura e molécula, assim são vistos como uma opção ideal para a indústria de óleo comestível (TIAN et al., 2013). Também não impedem o calor danos em compostos bioativos, mas também evita danos em materiais vegetais (YANG et al., 2017). Pode ser aplicado em duas técnicas diferentes, usando um banho ultrassônico ou um transdutor de chifre ultrassônico. Banho ultrassônico que foi equipado com um dispositivo de temperatura controlada que ajudou na recuperação de compostos termossensíveis, incluindo óleos essenciais (FUAD & DOM, 2016).

Existem duas formas de irradiação ultrassônica que são o contato direto ou indireto com a amostra. Contato indireto significa que o contato acontece através das paredes da amostra, como sistema de banho ultrassônico. O sistema de contato direto é mais eficaz no processo de extração, pois pode alimentar até 100 vezes melhor do que o contato indireto ou banho ultrassônico (MEDINA-TORRES et al., 2017).

Recentemente, tem havido muitos relatos sobre a aplicação de ultrassom na extração de traços compostos orgânicos do solo, tecidos animais e vegetais (TENG et al., 2016). Além disso, a extração por ultrassom também está bem reconhecida por exibir

grandes efeitos sobre a taxa de vários processos de extração em alimentos, produtos farmacêuticos e indústrias cosméticas (YANG et al., 2017).

As vantagens do uso de extração por ultrassom são a facilidade de manuseio, segurança em termos de pressão atmosférica e temperatura ambiente, uso moderado de solvente (MEDINA-TORRES et al., 2017). Também pode ser operado em temperatura moderada, o que é adequado para compostos sensíveis ao calor (ILGHAMI et al., 2015). Em contraste, as desvantagens do ultrassom são a necessidade de etapa de filtração e possível degradação de compostos em altas frequências.

2.9 Processo de extração assistido por ultrassom.

Extração assistida por ultrassom baseia-se no princípio do ultrassom de cavitação acústica que induz através de uma série de ondas de compressão e rarefação nas moléculas do meio através do qual é capaz de danificar as paredes celulares da matriz vegetal, além de favorecer a liberação de compostos bioativos (MEDINA-TORRES et al., 2017). Durante a sonicação, a cavitação acústica produz bolhas de cavitação que provocam a quebra da parede celular da planta e, eventualmente, permite fácil percolação do solvente no material extraível (BOATENG; LEE, 2013).

Em detalhes, o uso de ultrassom ou sonicação é quebrar as membranas celulares que tem a vantagem de reduzir consideravelmente o tempo de extração e aumentando o rendimento extraído. A aplicação do ultrassom rompe a estrutura da parede celular e aumenta a difusão através das membranas; assim, a célula sofre quebra e portanto, facilita a liberação do conteúdo celular (FALLEH et al., 2012). As bolhas de cavitação se formarão em alta potência suficiente para que o ciclo de rarefação possa exceder as forças atrativas das moléculas de o líquido. Essas bolhas crescem sob um processo conhecido como difusão retificada, ou seja, pequenas quantidades de vapor (ou gás) do meio entra na bolha durante sua fase de expansão e durante compressão, não é totalmente expelido. É o destino dessas bolhas quando elas desmoronam em sucesso ciclos de compressão que geram energia. As bolhas simétricas são criadas de forma homogênea, e seu colapso no líquido a granel também são simétricos, levando a pontos quentes localizados (~5000 K e ~2000 atm). As bolhas assimétricas cavitam de forma heterogênea na mistura. O colapso das bolhas é assimétrico, resultando em jatos de velocidade extremamente alta de solvente direcionado ao material vegetal e é isso que torna a extração tão eficaz. Assim que uma bolha colapsa perto de uma superfície

que pode ser a parede do vaso, partículas de ervas ou qualquer material em suspensão no líquido, que a bolha se deforma tomando uma forma de rosquinha, ou seja, o colapso é assimétrico e forma um jato de alta velocidade, impactando a parede com o potencial de varrer as partículas da superfície ou realmente causar danos reais.

Esta é uma das principais razões pelas quais o ultrassom é muito eficaz para a limpeza de superfície. Durante a sonicação de um material vegetal em um solvente, os sólidos suspensos promovem o colapso assimétrico da bolha que gera jatos de solvente em direção às partículas de ervas que tornam a extração deles mais eficiente. O colapso assimétrico da bolha é o parâmetro chave da extração assistida por ultrassom e, como em muitos processos ultrassônicos, a potência acústica aplicada deve ser grande o suficiente para superar o limiar de cavitação (MASON et al., 2017).

Além disso, os ultrassons também utilizam um efeito mecânico que promove uma melhor penetração de solvente na matriz da amostra, permitindo assim maiores taxas de difusão através da parede celular (FUAD; DOM, 2016).

Durante o processo da extração por ultrassom, o solvente será contatado pelos solutos ou pelas amostras. Então a eficiência da extração é influenciada pelo tempo de interação das duas fases. Existem duas fases que são a etapa de “lavagem” e a “extração lenta”. A primeira fase, etapa de “lavagem” é operada nos primeiros 10-20 minutos de extração, onde a superfície da matriz que contém o dissolvido de componente solúvel será realizada e cerca de 90% da extração pode ser feita nesta fase, sendo assim, a taxa de extração rápida. A segunda fase chamada de “extração lenta”, onde o processo de difusão ocorre dentro de 60-100 minutos à medida que a transferência de massa do soluto da matriz se difunde para o solvente (MEDINA-TORRES et al., 2017).

Com base nos estudos anteriores, muitos pesquisadores concluíram que o tempo de extração é em torno de 30 minutos durante o processo de extração por ultrassom (BOATENG; LEE, 2013). Também relatou que algumas pesquisas obteve o tempo de extração ideal superior a 30 minutos (ZHOU et al., 2017).

No pico da extração, os extratos são maiores devido ao craqueamento totalmente completo das células devido aos efeitos da cavitação acústica durante a fase inicial de extração, o que pode causar uma melhor penetração do solvente nas células e facilitam a liberação de óleo de dentro das células para o solvente exterior (FUAD; DON, 2016). Além disso, o rendimento da produção aumentou à medida que o tempo de extração aumentou porque um tempo mais longo dará à onda de ultrassom mais tempo para romper as paredes celulares e liberar o conteúdo celular (LI et al., 2016). No

entanto, em determinado ponto do tempo de extração, o rendimento de extração será constante ou declinado, pois o sistema está em estado de equilíbrio a partir deste ponto em diante. Como está nesse estado, o óleo começa a ser reabsorvido, o que diminui o rendimento (BUDDIN et al., 2018). Além disso, o tempo de extração prolongado pode aumentar as chances de decomposição das amostras e também aumentar potencialmente a perda de solvente por vaporização, que pode afetar diretamente a perda de transferência de massa durante a extração (YANG et al., 2017). Portanto, mais tempo de extração pode dar um resultado negativo e resultados desnecessários uma vez que o rendimento máximo de extração foi alcançado.

Temperatura: A temperatura é um dos principais fatores envolvidos no processo de extração por ultrassom. Há também muitas pesquisas que vinham sendo feitas usando este parâmetro como fator para produzir maior rendimento da Extração. A maioria das pesquisas relatou que a temperatura ideal está entre 30°C a 50°C para obter um maior rendimento (YANG et al., 2017). A temperatura exata depende dos materiais usados na extração.

O rendimento de extração aumentou quando a temperatura de extração foi aumentada. Uma temperatura mais alta de ultrassom pode levar a um maior coeficiente de difusão dos compostos desejados e melhorar a solubilidade dos compostos no solvente (ZHOU et al., 2017).

Em contraste, uma temperatura muito elevada causa a redução do rendimento devido ao efeito de amortecimento, o que significa que a pressão de vapor em temperaturas elevadas facilitou na formação de bolhas cheias de vapor e, como resultado, a implosão dessas bolhas foi amortecida. O efeito de cavitação é conhecido por ser menos eficiente em alta temperatura de extração, portanto, isso significativamente reduziu o rendimento (BUDDIN et al., 2018). Além disso, temperaturas excessivamente altas podem às vezes degradar compostos bioativos nos extratos, o que diminui o rendimento de antioxidantes (ZHOU et al., 2017). Assim, acabaria por fazer com que cavitação do ultrassom ser menos eficiente (FUAD; DON, 2016).

Durante a sonicação de um material vegetal em um solvente, os sólidos suspensos promovem o colapso assimétrico da bolha que gera jatos de solvente em direção às partículas que tornam a extração mais eficiente. O colapso assimétrico da bolha é o parâmetro-chave da extração assistida por ultrassom e, como em muitos processos ultrassônicos, a potência acústica aplicada deve ser grande o suficiente para

superar o limiar de cavitação (MASON et al., 2017).

Além disso, os ultrassons também utilizam um efeito mecânico que promove uma melhor penetração de solvente na matriz da amostra, permitindo assim maiores taxas de difusão através da parede celular (FUAD; DON, 2016).

3 METODOLOGIA

3.1 Tipo de estudo

Inicialmente foi realizado um levantamento bibliográfico através de meios impressos e eletrônicos sobre métodos utilizados para realizar a extração de própolis. A finalidade principal desta etapa era obter um conhecimento prévio sobre esses métodos, saber quais eram mais viáveis no que diz respeito à sua implementação, levando em consideração também a questão econômica.

Optou-se por um estudo de caso para aprofundar o conhecimento sobre as técnicas utilizadas para a realização da extração de própolis. Esse estudo constitui um passo inicial ou uma base de dados para pesquisas comparativas subsequentes e construção de teorias. O enfoque principal é interpretar os dados obtidos num esforço de usar os dados para avaliar o mérito das técnicas estudadas.

A pesquisa pode ser considerada como uma pesquisa tanto exploratória como descritiva. De acordo com Gil (2008), as pesquisas exploratórias têm como finalidade principal, esclarecer e modificar conceitos e ideias. São pesquisas que habitualmente envolvem levantamento bibliográfico, documental e estudo de caso. Já as pesquisas descritivas, se caracterizam por ter o objetivo primordial de descrever determinada população, fenômeno ou ainda relações entre variáveis.

Sob a forma de abordagem do problema, pode-se dizer que se caracteriza como uma pesquisa qualitativa e quantitativa, pois direciona para critérios numéricos além de se aprofundar nos fenômenos que ocorrem em determinado tempo e lugar.

Segundo Prodanov e Freitas (2013), a pesquisa qualitativa não requer o uso de métodos estatísticos, como a quantitativa, pois é a interpretação de fenômenos e a atribuição de significados no processo, atuando na coleta de dados no ambiente natural e focando na abordagem.

Quanto à natureza, se trata de uma pesquisa aplicada, pois objetiva a geração de conhecimentos para a aplicação prática e dirigidos à solução de problemas específicos. Envolvendo assim, verdades e interesses locais.

O método científico mais adequado ao trabalho, é o método comparativo. Segundo Fachin (2001) o método comparativo se consiste em investigar coisas ou fatos e explicá-los segundo suas semelhanças e suas diferenças. Permite a análise de dados concretos e a dedução de semelhanças e divergências de elementos constantes,

abstratos e gerais, propiciando investigações de caráter indireto. Assim, o presente trabalho faz as comparações com os resultados obtidos a partir do método já largamente utilizado, a maceração, com o método inovador, o ultrassom.

3.2 Local do estudo

O presente trabalho foi fundamentado na coleta de dados entre março e setembro de 2022. Foram levantados dados de uma empresa que produz extrato de própolis, na Região Metropolitana de Fortaleza. O estudo de caso foi realizado em uma empresa do setor alimentício, retratando o cenário de uma empresa que tem como seus principais produtos: mel, compostos à base de mel, sprays e extrato de própolis. Foram realizados testes para maximizar a produção de extratos com o uso de ultrassom.

3.3 Linhas de produção e seus produtos

A fábrica conta com um mix de produtos, sendo os que mais se destacam: o mel, seus compostos, extratos de própolis, e sprays. Os produtos são voltados tanto para o mercado nacional como para exportação.

- Mel: além de ser vendido como mel puro natural, esse também é usado na produção de compostos;
- Compostos do mel: produtos feitos à base de mel.
- Extratos de própolis: esses podem ser comercializados de forma pura, ou podem ser utilizados na produção de compostos e sprays.
- Sprays: produtos feitos à base de extratos com sabores variados.

Vale ressaltar que as linhas que participaram desse estudo são as de extratos.

Na Tabela 7, estão destacados os principais produtos comercializados pela empresa em que foi realizado o estudo de caso, assim como suas respectivas embalagens e gramaturas.

Tabela 6 - Produtos, embalagem e gramatura

Produto	Embalagem	Gramatura
Mel	Garrafa	260 g, 295 g, 700 g
Compostos	Pote, Garrafa	150 g, 250 g
Extratos	Frasco	30 mL, 35 mL, 60 mL
Spray	Frasco Spray	30 mL, 35 mL

Fonte: Autora (2022).

3.4 Matéria-Prima

As amostras de própolis utilizadas nos experimentos foram fornecidas por apiários provenientes do Ceará e do Piauí. Elas possuem a coloração esverdeada. As amostras acondicionadas em embalagens plásticas e armazenadas em um freezer.

Após a chegada das amostras própolis, o próximo passo foi classificá-las. Para isso, foi realizada um teste em laboratório, sendo necessário para isso:

- 20 g de própolis;
- 160 mL de álcool;
- 40 mL de água deionizada.

A solução foi preparada em um Erlenmeyer e colocada em banho-maria, a 65°, levando 3 (três) dias para se realizar a primeira medição. Ao fazer os testes de flavonoides e o teor alcoólico, decide-se em qual produção tal própolis recebida seria utilizada.

3.5 Extração de própolis

Os dados foram obtidos por meio de testes realizados no laboratório da empresa. A extração foi realizada com 10% de própolis, em um solvente composto por 80% de álcool e 20% de água deionizada.

Porém, para otimização dos resultados, experimentos foram feitos, modificando algumas variáveis, esperando conseguir um melhor rendimento em retorno. Em seguida, foram realizados testes com um método diferente: o ultrassom. Sendo assim, os primeiros testes que esse estudo apresenta são de maceração, depois os de ultrassom, para, por fim, fazer o comparativo entre os dois. A Tabela 8 mostra o comparativo dos dois métodos.

Tabela 7 – Comparativo entre Maceração e Ultrassom

	Maceração	Ultrassom
Própolis	Esverdeada, primeira qualidade	Esverdeada, primeira qualidade
Solvente	Etanol	Etanol
Temperatura	65°C	25°C-45°C

Fonte: Autora (2022).

Na tabela 9, pode-se visualizar a variação na porcentagem de própolis utilizada e o tempo empregado para realizar as extrações por meio de maceração e ultrassom.

Tabela 8 – Comparativo entre quantidade de própolis utilizada e tempo empregado nas extrações por maceração e ultrassom.

Tipo de Extração		
	Maceração	Ultrassom
Própolis	10% - 15%	10% - 15%
Tempo	72h - 120h	90 a 270 min

Fonte: Autora (2022)

3.6 Análise dos dados

A análise dos dados obtidos com as extrações utilizando maceração e ultrassom foram feitas utilizando os equipamentos mostrados na Figura 10. Para fazer a maceração, a solução foi preparada num erlemneyer e é levada ao banho-maria. O banho-maria utilizado pode ser visto na Figura 10(a). As medidas dos flavonóides fora feitas usando um espectrofotômetro (Fig. 10b). A medição de álcool foi feita usando um alcoômetro Fig. 10 c). Para realizar a extração por ultrassom, é utilizada uma cuba ultrassônica, conforme a Figura 10(d).

Figura 10 – Equipamentos Utilizados para realizar extrações e análises



Fonte: Autora (2022).

3.6.1 Teor de álcool

Para determinar o teor alcoólico de cada extrato, foi utilizado um alcoômetro, conforme a figura 10c. Colocou-se numa proveta 100 mL de extrato de própolis, e após isso, o alcoômetro foi colocado na proveta, em contato com a amostra. Após estar estabilizado, pode fazer a leitura do teor alcoólico do extrato.

3.6.2 Flavonoides

Para a determinação dos flavonóides totais, o método escolhido foi por espectrofotometria no UV através da reação com o cloreto de alumínio. Esta técnica para a identificação de flavonóides totais em própolis (OLIVEIRA, 2010) foi adaptada das análises de flavonóides em plantas, onde normalmente se encontra a quercetina.

Assim, prepara-se a solução em dois balões volumétricos. O primeiro balão de 25 mL e o segundo, de 50 mL. No primeiro, foi colocado 0,5 mL de cloreto de alumínio a 5%. No outro, 1 mL de extrato de própolis e 1 mL de cloreto de alumínio a 5%. No

segundo balão volumétrico, acrescentou-se 0,1 mL de extrato de própolis. O volume final de cada balão foi ajustado com etanol, a 96°. No branco do sistema, 1 mL da solução aquosa de cloreto de alumínio diluído em balão de 25 mL foi utilizada. Decorridos 30 min, foi tomada a leitura de cada solução a 425 nm, em espectrofotômetro (WOISKY; SALATINO, 1998), conforme a Figura 10b.

Foi utilizado o *Software Microsoft Excel* para fazer os cálculos para a obtenção do teor de flavonoides em cada extrato, com os valores dos comprimentos de onda obtidos na leitura pelo espectrofotômetro.

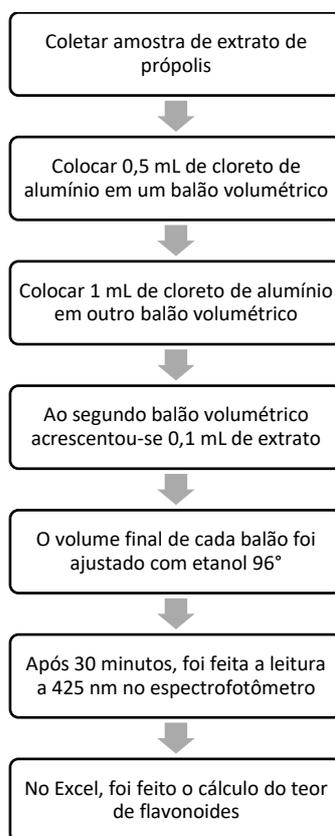
Na Figura 11, pode-se visualizar fotos de Erlenmeyers usados para fazer os experimentos, bem como de balões volumétricos em que foi recolhida a amostra para fazer a análise de flavonoides. Na Figura 12, encontra-se um fluxograma dos passos envolvidos para a determinação dos flavonoides.

Figura 11 – Erlenmeyers usados para realizar extrações e balões volumétricos para análise de flavonoides.



Fonte: Autora (2022)

Figura 12 – Fluxograma dos passos para a determinação dos flavonoides



Fonte: Autora (2022)

3.6.3 Extrato Seco

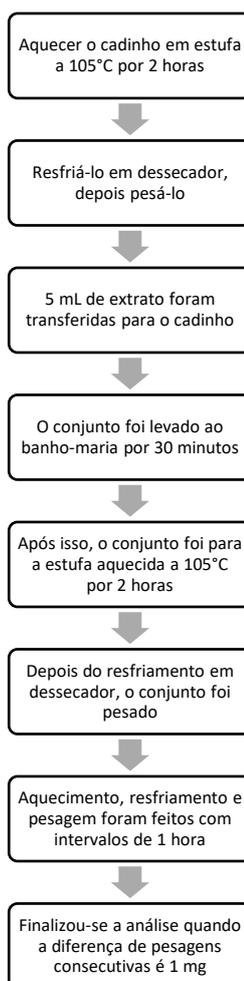
Outro método empregado para medir a qualidade do extrato de própolis é o extrato seco. O extrato seco, também conhecido como extrato em pó é obtido a partir de processos de extração dos princípios ativos de uma planta ou de um fruto.

Uma alíquota de 5 mL do extrato de própolis, foi transferida para um cadinho de alumínio (aquecido em estufa a 105°C, por 2 h, resfriado em dessecador e pesado) e o conjunto levado ao banho-maria por 30 minutos. Em seguida, foi o conjunto é retirado do banho-maria e transferido para a estufa pré-aquecida a 105°C, onde permaneceu por 2 h. Após resfriamento em dessecador, o conjunto foi pesado. O processo de aquecimento, resfriamento e pesagem do conjunto foi repetido com intervalos de 1 h, até se atingir massa constante (quando a diferença entre duas pesagens consecutivas não excedeu 1 mg). O teor de extrato seco foi calculado pela diferença entre a massa de resíduo depositada no cadinho e a massa inicial de própolis bruta extraída, correspondente à alíquota de 5 mL, em porcentagem. A figura 13, mostra o fluxograma

dos passos necessários para a determinação do extrato seco.

Esse método é muito importante especialmente para a comercialização do extrato, visto que o Ministério da Agricultura fiscaliza a quantidade de extrato seco presente nos produtos (BRASIL, 2001).

Figura 13 – Fluxograma dos passos para a determinação do extrato seco



Fonte: Autora (2022)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção aborda os testes feitos para maximizar a produção de extratos de propolis com o uso de ultrassom. Ao realizar os testes, levou-se em conta que a própolis escolhida é de primeira qualidade, na cor esverdeada. Esse tipo de própolis foi escolhido por apresentar melhor qualidade, de acordo com testes realizados.

4.1 Testes da Extração com Maceração

Em todos os experimentos que realizam a maceração à quente, a temperatura foi fixada a 65°C. Essa temperatura foi escolhida pois é a mesma usada na produção em escala industrial. A primeira variável modificada para a realização de testes foi o solvente, no que diz respeito à sua composição.

Utilizando o método de maceração em laboratório, foram feitos testes que mantiveram o mesmo tipo de própolis, sendo utilizada a mesma quantidade (10% m/v), durante a mesma quantidade de tempo: 72 horas para realizar a primeira medição e chegando até 120 horas para a realização da última. Ao finalizar os testes, os extratos obtidos passaram por análises, para saber o teor alcoólico final, os flavonoides e o extrato seco. Os resultados obtidos foram evidenciados na tabela a seguir. Os valores na Tabela 10 foram encontrados após a última medição.

Tabela 9 - Maceração do extrato de própolis a 10% (m/v) com variação de teor alcoólico do solvente

AMOSTRAS	TEOR DE ÁLCOOL INICIAL	TEOR DE ÁLCOOL FINAL	EXTRATO SECO (%)	FLAVONOIDES (m/v)
1	60°	57°	5,00	0,24
2	65°	62°	5,00	0,24
3	70°	68°	5,40	0,3
4	75°	72°	5,20	0,28
5	80°	74°	6,50	0,33
6	85°	77°	6,40	0,32
7	90°	84°	7,30	0,34

Fonte: Autora (2022).

Dos primeiros 5 testes feitos, nos quais há apenas a variação do teor de álcool inicial, percebe-se qual valor pode trazer um melhor rendimento. Quando se aumenta o teor alcoólico do solvente de 60° para 65°, percebe-se que não há mudanças nem nos

flavonoides e nem no extrato seco. Porém, quando se aumenta o teor alcoólico para 70°, percebe-se uma mudança significativa nos flavonoides e uma pequena melhora no extrato seco. Mas, quando o teor alcoólico muda para 75° e 85°, o que se nota é que o rendimento cai, não apenas nos flavonoides, mas no extrato seco também. A extração realizada com 80° de teor alcoólico no solvente, resultou em uma melhora significativa tanto nos flavonoides quanto no valor do extrato seco. Comparando com a extração a 80° com a extração a 90°, nota-se que a de 90° possui valor de extrato seco significativamente melhor, mas o mesmo não se dá ao observar os flavonoides. Pode-se perceber que em todos os testes realizados, houve uma diminuição de teor alcoólico ao final, provando que há a evaporação de solvente. Todos os testes tiveram o mesmo período de duração.

Uma segunda etapa de testes foi realizada, novamente utilizando o método da maceração. Dessa vez, variando a porcentagem de própolis utilizada. Assim, os testes foram feitos com 11% de própolis, novamente variando o teor alcoólico no solvente, em: 60°, 65°, 70°, 75°, 80°, 85°, 90°. Foi empregada a mesma quantidade tempo, 72 horas para realizar a análise inicial e chegando até 120 horas para realizar a última. Ao final, foram realizadas as mesmas análises, a saber, teor alcoólico, flavonoides e extrato seco. Os resultados obtidos, encontram-se na Tabela 11. Os valores abaixo se referem aos encontrados na última medição.

Tabela 10 - Maceração de própolis a 11% com variação de teor alcoólico do solvente

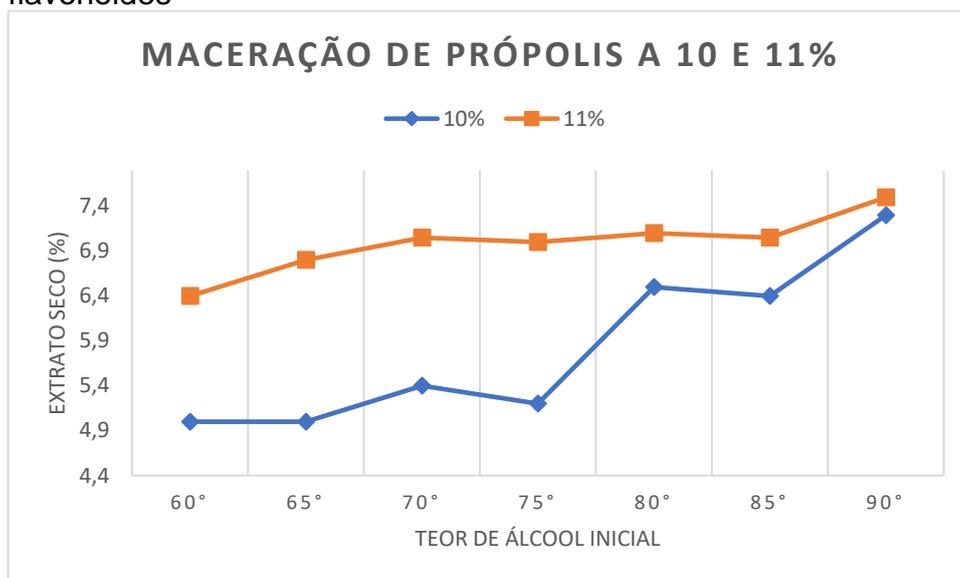
AMOSTRAS	TEOR DE ÁLCOOL INICIAL	TEOR DE ÁLCOOL FINAL	EXTRATO SECO (%)	FLAVONOIDES (m/v)
8	60°	56°	6,40	0,3
9	65°	61°	6,80	0,31
10	70°	69°	7,05	0,33
11	75°	72°	7,00	0,32
12	80°	76°	7,10	0,34
13	85°	81°	7,05	0,33
14	90°	85°	7,50	0,35

Fonte: Autora (2022).

Depois de realizados os testes e terem sido feitas as análises, percebe-se um aumento significativo nos rendimentos quando se aumenta a porcentagem utilizada de própolis. Podemos ver melhor a partir das Figuras 14 e 15. Tanto os flavonoides como o extrato seco crescem gradativamente com o aumento do teor alcoólico do solvente.

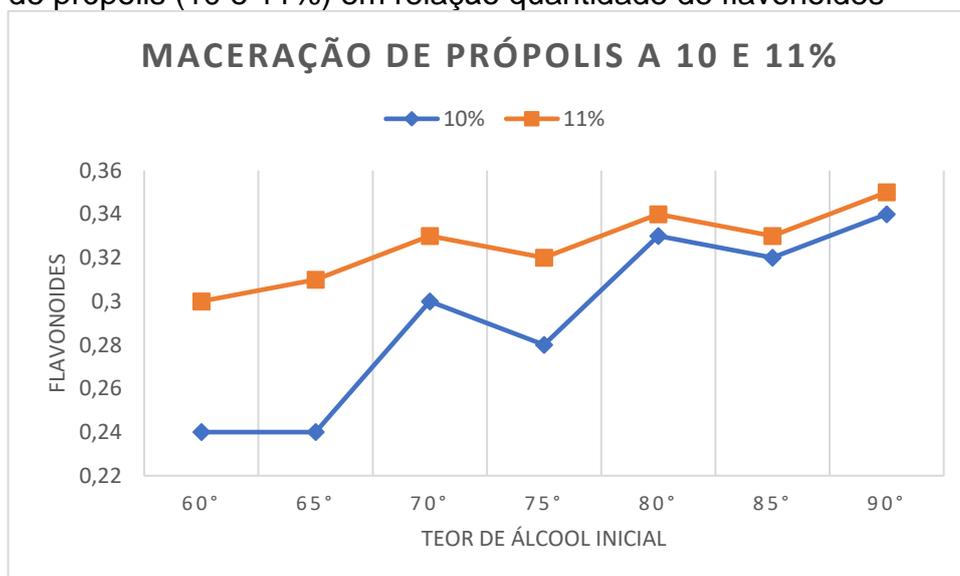
Porém, quando a extração é realizada com 75° e 85°, novamente apresenta uma diminuição de rendimento, voltando a crescer quando o teor alcoólico da extração passa para 80°. Novamente, entre o teor alcoólico de 80° e 90° não se percebe grandes diferenças no que diz respeito aos flavonoides, mas com respeito ao extrato seco, sim. Novamente, nota-se uma diminuição de teor alcoólico ao final das extrações, evidenciando evaporação de solvente.

Figura 14 – Extração por maceração comparando a concentração de própolis (10 e 11%) em relação ao extrato seco e quantidade de flavonoides



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 15 – Extração por maceração comparando a concentração de própolis (10 e 11%) em relação quantidade de flavonoides



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

4.2 Testes da Extração com Ultrassom

Agora, os testes seguintes irão utilizar outro método: ultrassom. Na primeira etapa de testes, foi utilizada a mesma quantidade de própolis: 10%, durante a mesma quantidade de tempo: 90 minutos, em seguida 180 minutos e finalizando com extrações a 270 minutos. Após isso, são realizadas as primeiras análises para saber o teor alcoólico final, os flavonoides e o extrato seco. Os resultados obtidos foram evidenciados na Tabela 12.

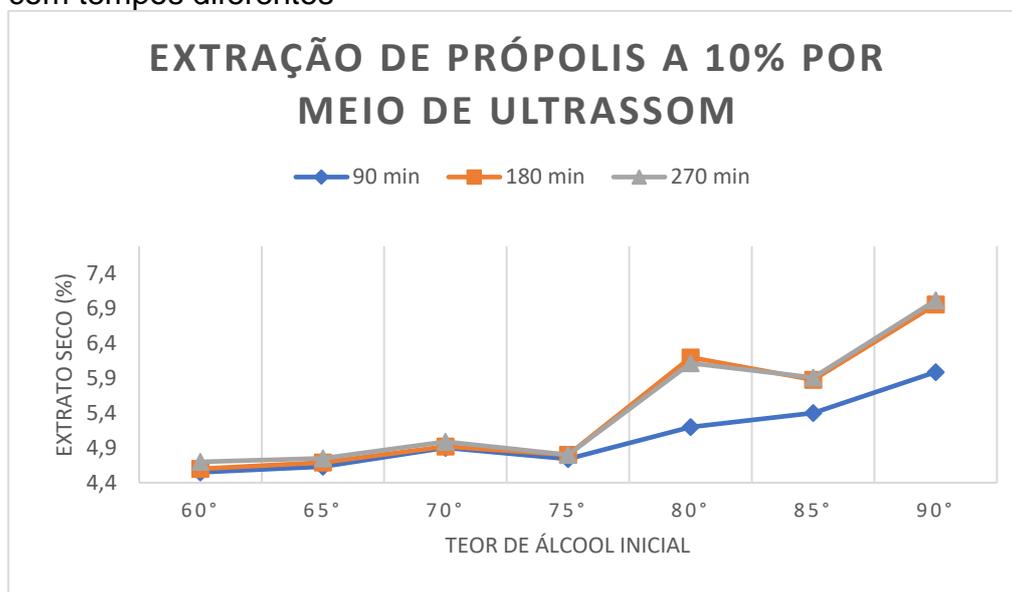
Tabela 11 - Extração de própolis a 10% por meio de ultrassom com variação de teor alcoólico do solvente e tempo variando de 90 a 270 minutos

AMOSTRAS	TEOR DE ÁLCOOL INICIAL	TEOR DE ÁLCOOL FINAL	EXTRATO SECO (%)	FLAVONOIDES (m/v)	QUANTIDADE DE TEMPO EMPREGADA (min)
15	60°	58°	4,55	0,25	90
16	65°	64°	4,63	0,26	90
17	70°	69°	4,90	0,28	90
18	75°	73°	4,74	0,27	90
19	80°	79°	5,20	0,30	90
20	85°	84°	5,40	0,29	90
21	90°	89°	5,99	0,32	90
22	60°	58°	4,60	0,26	180
22	65°	63°	4,69	0,27	180
23	70°	69°	4,92	0,29	180
24	75°	73°	4,80	0,28	180
25	80°	79°	6,20	0,33	180
26	85°	84°	5,88	0,31	180
27	90°	89°	6,96	0,35	180
28	60°	57°	4,70	0,26	270
29	65°	62°	4,75	0,28	270
30	70°	68°	4,99	0,29	270
31	75°	72°	4,80	0,28	270
32	80°	78°	6,12	0,33	270
33	85°	84°	5,91	0,30	270
34	90°	88°	7,02	0,35	270

Fonte: Autora (2022).

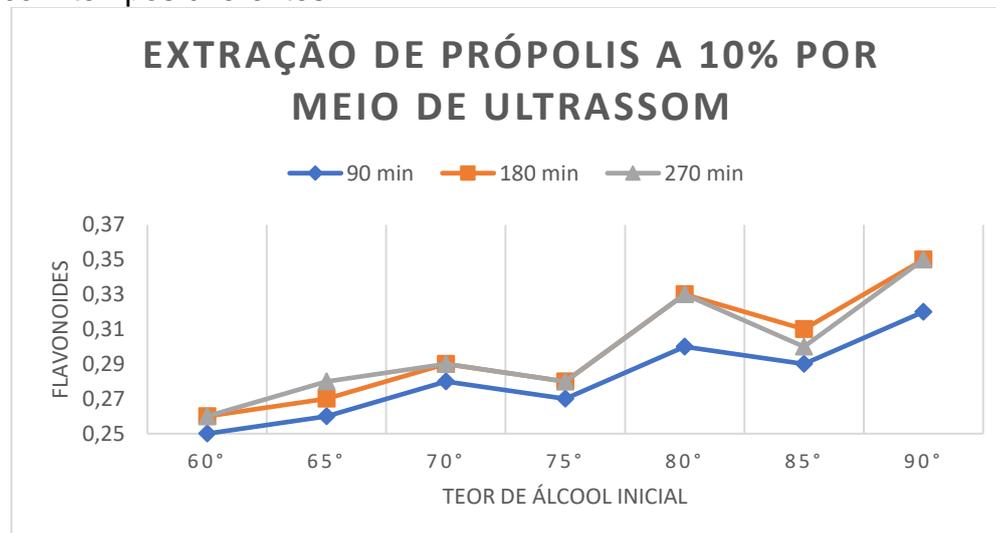
Para melhor compreensão, as Figuras 16 e 17 fazem a comparação entre as extrações por ultrassom a 90, 180 e 270 minutos (Amostras 15 a 34), no que diz respeito ao extrato seco e aos flavonoides, respectivamente.

Figura 16 – Comparativo de extrato seco entre extrações por ultrassom com tempos diferentes



Fonte: Autora (2022).

Figura 17 – Comparativo de flavonoides entre extrações por ultrassom com tempos diferentes



Fonte: Autora (2022).

Ao analisar essa primeira etapa de testes realizados no método ultrassom, percebe-se novamente a tendência a queda de rendimento ao realizar a extração a 75°. Para tentar otimizar os resultados, decidiu-se por fazer de um teste de mais 90 minutos no ultrassom.

Da Tabela 12, pode-se concluir que novamente a extração realizada com teor alcoólico a 75° possui rendimento menor que as demais. Nota-se que a extração por

ultrassom é mais rápida que a maceração.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 12, pode-se perceber que a partir dos 180 minutos, os flavonoides de algumas extrações aumentam, outros diminuem, e alguns estagnam.

Para saber como se comportarão extrações por ultrassom a partir de 180 minutos, foram feitos mais testes com mais 90 minutos, totalizando assim, 270 minutos de extração.

Assim como os resultados do método da maceração, o teste feito com o método ultrassom com o solvente a 85° teve um resultado inferior aos realizados com 80° e 90°. Mais uma vez nota-se que ao realizar os testes pelo método de ultrassom, há menos evaporação do solvente.

Ao realizar os testes com o método de ultrassom, evidencia-se que entre um solvente com teor alcoólico de 80° ou um com 90°, há sim alguma melhoria com um solvente de 90°, mas esta não é tão significativa assim.

Agora, na próxima etapa de testes, será utilizado 11% de própolis, novamente variando o teor alcoólico no solvente, em: 60°, 65°, 70°, 75°, 80°, 85° e 90°. A quantidade de tempo inicial foi de 90 minutos para realizar a análise inicial, depois 180 minutos e por último, 270 minutos. Ao final, foram realizadas as mesmas análises anteriores, a saber, teor alcoólico, flavonoides e extrato seco. Os resultados obtidos, encontram-se na Tabela 13.

Tabela 12 - Extração de própolis a 11% por meio de ultrassom com variação de teor alcoólico do solvente

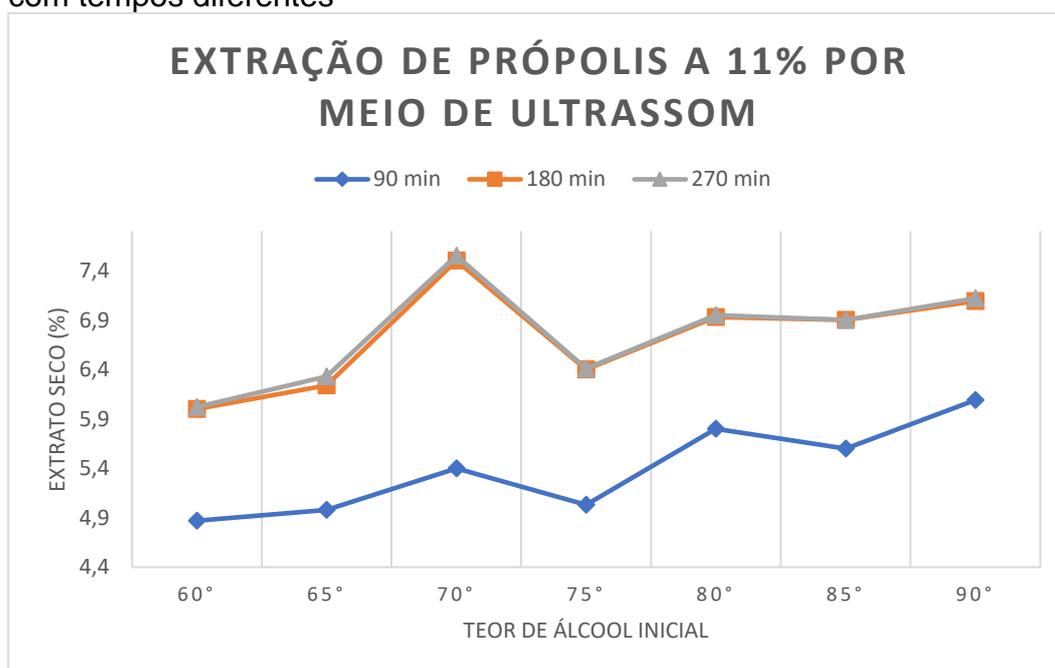
AMOSTRAS	TEOR DE ÁLCOOL INICIAL	TEOR DE ÁLCOOL FINAL	EXTRATO SECO (%)	FLAVONOIDES (m/v)	QUANTIDADE DE TEMPO EMPREGADA (min)
35	60°	59°	4,87	0,27	90
36	65°	64°	4,98	0,28	90
37	70°	70°	5,40	0,3	90
38	75°	74°	5,03	0,28	90
39	80°	80°	5,80	0,32	90
40	85°	82°	5,60	0,31	90
41	90°	90°	6,09	0,34	90
42	60°	58°	6,00	0,3	180
43	65°	64°	6,24	0,32	180
44	70°	69°	7,50	0,36	180
45	75°	74°	6,40	0,34	180

46	80°	79°	6,93	0,38	180
47	85°	68°	6,90	0,35	180
48	90°	90°	7,09	0,36	180
49	60°	57°	6,02	0,29	270
50	65°	64°	6,33	0,32	270
51	70°	68°	7,55	0,37	270
52	75°	74°	6,41	0,33	270
53	80°	79°	6,95	0,38	270
54	85°	83°	6,90	0,34	270
55	90°	89°	7,12	0,35	270

Fonte: Autora (2022).

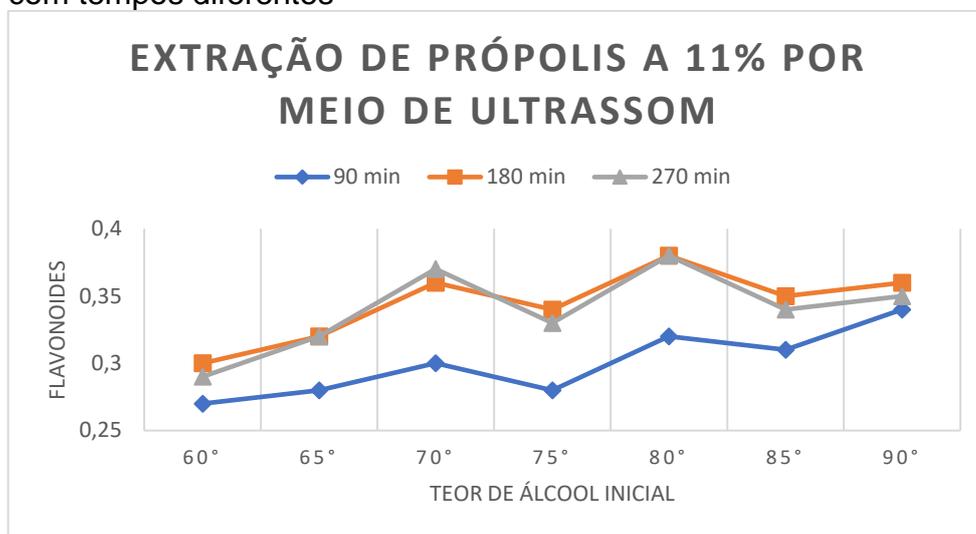
Para melhor compreensão, as figuras 18 e 19 fazem a comparação do extrato seco e flavonoides nas extrações por ultrassom, em 90, 180 e 270 minutos (amostras 35 a 55).

Figura 18 - Comparativo de extrato seco entre extrações por ultrassom com tempos diferentes



Fonte: Autora (2022).

Figura 19 - Comparativo de extrato seco entre extrações por ultrassom com tempos diferentes



Fonte: Autora (2022).

Após mais essa etapa de testes, pode-se concluir que realizar extrações com 75° e 85° de teor alcoólico em solvente traz resultados insatisfatórios, que tanto se repetem no método maceração como nos testes feitos no método ultrassom. Nessa nova etapa, em alguns testes, pode-se observar nenhuma evaporação de solvente.

Ao final desses testes, nota-se mais uma vez como os rendimentos caem ao realizar a extração com 75° e 85° de teor alcoólico de solvente. É digno de nota que a tabela evidencia uma diminuição de evaporação de solvente.

Novamente, a partir de dos 180 minutos, a extração por ultrassom se comporta de maneiras diferentes. Assim como aconteceu nos testes de própolis a 10%, algumas extrações tiveram melhorias, outras diminuição e outras estagnação.

Mais uma vez, cada extração teve um resultado diferente: a 80° houve um aumento, na extração a 85° houve uma diminuição e na extração a 90°, houve estagnação.

Pode-se aferir que o aumento na quantidade de própolis utilizada é positivo, assim como também o aumento do teor alcoólico. Com o aumento do tempo, 180 minutos, percebe-se que a aplicação de extração por ultrassom traz resultados satisfatórios.

Após analisar os dados obtidos a partir dos testes feitos, chegou-se à conclusão de que os testes seguintes deveriam fixar o teor de álcool do solvente a 80°C e variar apenas a quantidade de própolis utilizada. Outro ponto, é com respeito à

quantidade de tempo utilizada nos testes feitos por ultrassom. Após verificar os rendimentos, optou-se por utilizar 180 minutos para realizar a extração, pois nesse tempo, há um aumento em relação às extrações feitas em 90 minutos. E o comportamento em extrações a 270 minutos não segue um padrão.

4.3 Comparativo entre os dos métodos de extração

Foram feitos testes que comparam maceração e ultrassom, variando a quantidade de própolis em: 10%, 11%, 12%, 13%, 14% e 15%.

Resultados obtidos ao fazer os testes pelo método maceração:

Tabela 13 - Extração por maceração tendo a quantidade de própolis variável

AMOSTRAS	TEOR DE ÁLCOOL INICIAL	TEOR DE ÁLCOOL FINAL	EXTRATO SECO (%)	FLAVONOIDES (m/v)	QUANTIDADE DE TEMPO EMPREGADA
10%	80°	74°	6,50	0,33	72 – 120H
11%	80°	76°	7,10	0,34	72 – 120H
12%	80°	77°	7,15	0,36	72 – 120H
13%	80°	75°	7,29	0,39	72 – 120H
14%	80°	76°	7,40	0,41	72 – 120H
15%	80°	77°	7,51	0,45	72 – 120H

Fonte: Autora (2022)

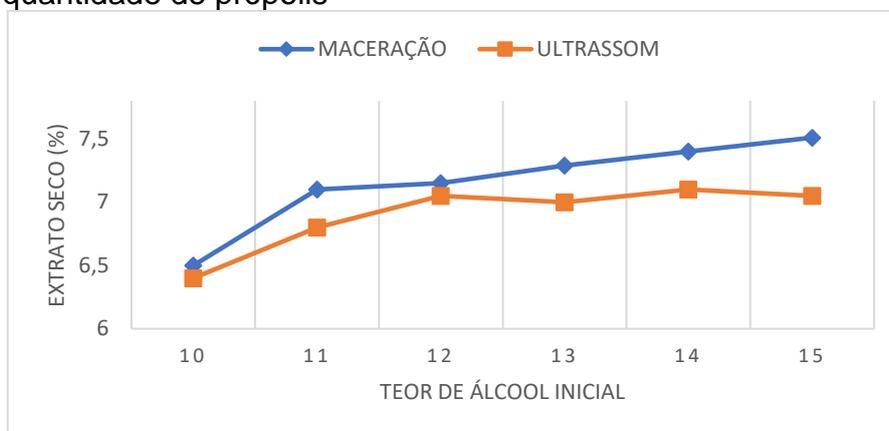
Resultados obtidos ao realizar os testes pelo método ultrassom:

Tabela 14 - Extração por ultrassom tendo a quantidade de própolis variável

AMOSTRAS	TEOR DE ÁLCOOL INICIAL	TEOR DE ÁLCOOL FINAL	EXTRATO SECO (%)	FLAVONOIDES (m/v)	QUANTIDADE DE TEMPO EMPREGADA (min)
10%	80°	79°	6,20	0,33	180
11%	80°	79°	6,93	0,38	180
12%	80°	78°	6,99	0,39	180
13%	80°	78°	7,20	0,42	180
14%	80°	79°	7,29	0,44	180
15%	80°	79°	7,42	0,48	180

Fonte: Autora (2022)

Figura 20 – Extração por maceração e ultrassom variando a quantidade de própolis



Fonte: Autora (2022)

Com todos os dados em mãos, são feitas comparações para saber qual o método mais adequado para se fazer a extração da própolis.

Assim, os parâmetros que serão analisados a seguir, serão:

- Flavonoides;
- Extrato seco;
- Teor alcoólico do solvente;
- Tempo.

Os primeiros dados comparados entre maceração e ultrassom dizem respeito ao número de flavonoides. A Figura 21 mostra a evolução dos flavonoides em cada extração, fazendo a comparação entre os flavonoides das tabelas 24 e 25.

Figura 21 - Comparação dos resultados de flavonoides: Maceração x Ultrassom



Fonte: Autora (2022).

Como se pode observar, à medida que se aumenta a porcentagem de própolis em cada extração, a tendência é o aumento de flavonoides. Na primeira extração, com 10% de própolis, tanto a maceração como o ultrassom obtêm a mesma quantidade de flavonoides. Porém, nota-se que em todas as outras, o ultrassom traz um resultado mais satisfatório.

Na Figura 22, pode-se observar a análise de extrato seco na maceração e no ultrassom, com os valores dispostos nas Tabelas 24 e 25.

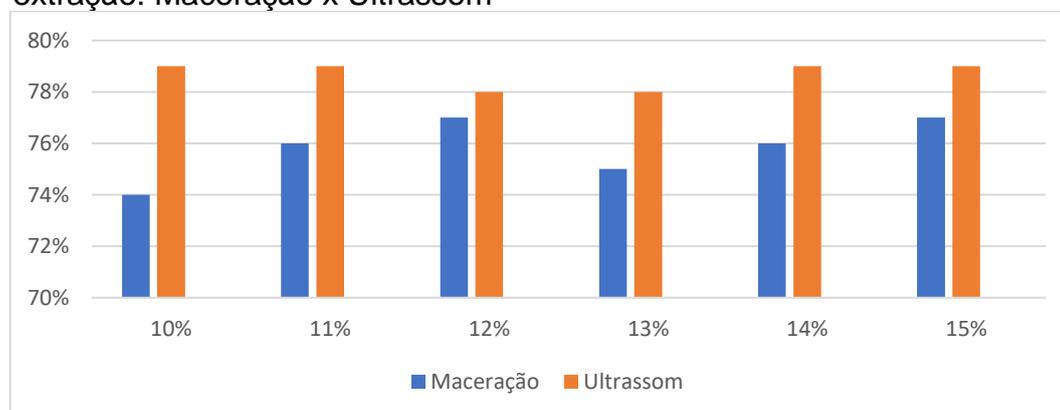
Figura 22 - Comparação dos resultados de Extrato seco: Maceração x Ultrassom



Fonte: Autora (2022).

É digno de nota que mesmo os flavonoides da maceração sendo inferiores aos obtidos por meio do ultrassom, o extrato seco do primeiro segue sendo maior. Para compreender melhor as possíveis causas disso, deve-se analisar a Figura 23, que compara o teor alcoólico ao final de cada extração conforme as Tabelas 24 e 25.

Figura 23 - Comparação dos resultados de Teor Alcoólico ao final da extração: Maceração x Ultrassom



Fonte: Autora (2022).

Ao analisar o quanto de teor alcoólico de cada solvente ao começo e ao final de cada extração, percebe-se que a evaporação de solvente em cada extração é bem maior no método da maceração do que no método de ultrassom.

Pode-se explicar esse fato por conta da temperatura empregada em cada método. Enquanto a temperatura na maceração à quente fica em torno de 65°C, a temperatura de extração por ultrassom fica entre 25°C a 45°C.

Outro ponto a ser considerado é que a maceração é um método que envolve dias, enquanto o ultrassom envolve horas. Quanto mais tempo é empregado no método, maior é a chance de perda de solvente.

E isso é provavelmente a causa para o extrato seco da maceração ser maior que o do ultrassom. À medida que o solvente é evaporado, isso resulta num aumento da relação: sólido por solvente.

Por último, o fator a ser considerado é o tempo. Levando em consideração que o período de maceração dos testes foi de 5 dias, ou 120 horas, enquanto no ultrassom foram empregados 180 minutos, ou seja, 3 horas, nota-se que, para chegar em resultados similares, emprega-se 40 vezes mais tempo no método de maceração. Especialmente na indústria, isso representa um grande atraso na cadeia produtiva, e portanto, o ultrassom se mostra como uma alternativa melhor.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo tem como objetivo procurar alternativas para a otimização da produção de extrato de própolis. Assim, comparou-se o método mais utilizado pela indústria, a maceração, com um método mais recente de extração, o ultrassom.

Foram feitos testes de extração por maceração e por ultrassom, e fez-se uma comparação entre elas, analisando alguns parâmetros, que foram: flavonoides, extrato seco, teor alcoólico do solvente e tempo. Ao analisar os testes feitos, percebeu-se que a extração por ultrassom é uma técnica de extração rápida e que funciona de maneira eficaz, também é simples de ser aplicada. Pode-se afirmar também que a extração consome menos energia e tempo, e traz rendimentos mais elevados.

Ao analisar os flavonoides, pode-se afirmar que o uso do ultrassom para realizar a extração trouxe melhores rendimentos.

No que diz respeito ao tempo, percebe-se a maior diferença entre todos os parâmetros analisados. É digno de nota que a extração por ultrassom é 40 vezes mais rápida que a extração por maceração. Enquanto o primeiro método acontece em questão de horas, o segundo leva dias. As primeiras análises da maceração ocorrem após 3 dias, e dependendo dos resultados, podem até chegar a 7 dias para encontrar um resultado satisfatório. Enquanto isso, o método de ultrassom ocorre em questão de minutos, que pode ser entre 30 e 240 minutos. No presente estudo, a maceração levou 120 horas para encontrar um bom rendimento, enquanto o ultrassom levou 3 horas. Mostrando uma otimização do tempo.

Dessa forma, chegou-se à seguinte conclusão: que a técnica de extração escolhida é a Extração Assistida por Ultrassom, pois representa uma melhoria significativa no tempo empregado para a produção de extrato de própolis.

O solvente escolhido é o Etanol, a 80%. O tempo ótimo de extração de acordo com os testes realizados foi de 180 minutos, e a temperatura variando de 25°C a 45°C.

Sugere-se mais pesquisas sobre esse tema, visando evidenciar ainda mais benefícios da técnica de extração por ultrassom. Mostrando como ela pode ser empregada não apenas na extração de própolis, mas em outros tipos de indústria, diminuindo o tempo de produção e beneficiando não só quem produz, mas também o consumidor final.

REFERÊNCIAS

- ADELMANN, J. **Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana / antioxidante**. 2005. 186. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2005.
- BANKOVA, V. Chemical diversity of Propolis and the Problem of Standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p.114-117, 2005.
- BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; STOEV, G.; POPOV, J. Determination of phenolics from propolis by capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 607, p. 150-151, 1992.
- BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Recent progress in pharmacological and research of propolis. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 561-571, 2001.
- BARROS, M.P., SOUZA, J.P., BASTOS, J.K., et al. Effect of Brazilian green própolis on experimental gastric ulcers in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, n.3, p.567-571, 2007.
- BASNET, P. et al. Potent free radical scavenging activity of propol isolated from Brazilian propolis. **Z Naturforsch**, Juebingen, v.52, n.1, p.828-855, 1997.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001**. Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis, conforme consta dos Anexos desta Instrução Normativa. Publicado no Diário Oficial da União de 23/01/2001.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 132 de 29 de maio de 2003**.
- BUDDIN, M. M. H. S., RITHUAN, M. Z. A., SURNI, M. S. A., JAMAL, N. H. M., & FAIZNUR, M. F. Ultrasonic assisted extraction (UAE) of Moringa oleifera Seed Oil: Kinetic study. **ASM Science Journal**, v.11, n.3, p.158–166, 2018.
- BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 347-363, 1998.
- BURIOL, L.; FINGER, D.; SCHMIDT, E.M.; SANTOS, M.T.; ROSA, M.R.; QUINÁIA, S.P.; TORRES, Y.R.; SANTA, H.S.D.; PESSOA, C.; MORAES, M.O.; COSTALOTUFO, L.V.; FERREIRA, P.M.P.; SAWAYA, A.C.H.F.; EBERLIN, M.N. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**. V.32, n.2, p.296-302, 2009.
- CARREIRA-CASAS, et al. **Benefits and Drawbacks of Ultrasound - Assisted Extraction for the Recovery of Bioactive Compounds from Marine Algae**, 2021.
- CARVALHO, I.L. et al. Efeito do extrato de própolis, benzoato de benzila, Cypermethrin e álcool de cereais no tratamento de sarcoptes em coelhos (**Oryctolagus cuniculus**), 2003.

CASSINO, Mark. **Apis mellifera**, 1999. www.orquidario.com.br/curiosidades/
CATCHPOLE, O. J.; GREY, J. B.; MITCHELL, K. A.; LAN, J. S., Supercritical antisolvent fractionation of propolis tincture. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 29, p. 97-106 2004.

CATEF - Câmara Técnica de Medicamentos Fitoterápicos. **Nota Técnica sobre o Registro de Produtos Contendo Própolis**. 2005.

CIZMARIK, J.; LAHITOVA, N.; JELOKOVA J.; **Pharmazie**, v.53, n.883, 1998.

DANTAS, A.P., SALOMÃO, K., BARBOSA, S.L. de C. The effect of Bulgarian against *Trypanosoma cruzi* and during its interection with host cells. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 2, p.207-211. 2006.

FALLEH, H., KSOURI, R., LUCCHESI, M. E., ABDELLY, C., & MAGNÉ, C. Ultrasound-assisted extraction: Effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of *Mesembryanthemum edule* L. Aizoaceae shoots. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v.11, n.2, 243–249, 2012.

FERNANDES, J.R. A.; BALESTRIN, E.C.; BETONI, J.E.C.; ORSI, R.O.; CUNHA, M.L.R.S.; MONTELLI, A.C. Propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v.100, p.563-66, 2005.

MOHD FUAD, F.; MAT DON, M. Ultrasonic-Assisted Extraction of Oil From *Calophyllum Inophyllum* Seeds: Optimization of Process Parameters. **Jurnal Teknologi**, v.78, n.10, 2016.

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. São Paulo: Atlas, 2008.

GOETZ, P.. **Phytothérapie** 1990, 3, 29-30.

HASHIMOTO, T.; AGA, H.; T ABUCHI, A. Anti-*Helicobacter pylori* compounds in Brazilian propolis. **Nature Medicine**, v.52, p.518-520, 1998.

HOLLANDS, I.; MIYARES, C.; SIGARROA, A. Análisis comparativo entre la acción del propóleos, la sulfaquinoxalina y la sulfametacina en conejos afectados por coccidiosis. **Revista Cubana Ciencia Veterinária**, v. 19,n. 2, p.99-104, 1988.

ILGHAMI, A., GHANBARZADEH, S., & HAMISHEHKAR, H. **Optimization of the Ultrasonic-Assisted Extraction of Phenolic Compounds , Ferric Reducing Activity and Antioxidant Activity of the *Beta vulgaris* Using Response Surface Methodology**, (june), 46–50, 2015.

JIN, U.; CHUNG, T.; KANG, S.; SUH, S.; KIM, J.; CHUNG, K.; GU, Y.; SUZUKI, I.; KIM, C. Caffeic acid phenyl ester in propolis is a strong inhibitor of matrix metalloproteinase-9 and invasion inhibitor: isolation and identification. **Clin. Chim. Acta** 362, 57–64, 2005.

KIMOTO, T.; ARAI, S.; KOHGUCHI, M. **Apoptosis and suppression of tumor growth by artepillin C extracted from Brazilian propolis**. *Cancer Detection and Prevention*, v.22, p.506-515, 1998

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

LI, Z., YANG, F., YANG, L., & ZU, Y.-G. Ultrasonic Extraction of Oil from *Caesalpinia spinosa* (Tara) Seeds . **Journal of Chemistry**, v. 1, 2016.

LONGHINI, R.; RAKSA, S.M.; OLIVEIRA, A.C.P.; SVIDZINSKI, T.I.E.; FRANCO, S.L. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Ver Bras Farmacogn**. V.17, 388-395. 2007.

MAHRAN, L.G.; EI-KHATIB , A.S.; AGHA, A.M.; KHAYYAL, M.T. The protective effect of aqueous propolis extract on isolated rat hepatocytes against carbon tetrachloridotoxicity. **Drugs under Experimental and Clinical Research**, v.22, p.309-316, 1996.

MARCUCCI, M.C.; FERRERES, F.; GARCÍA-VIGUERA, BANKOVA, V.S.; DE CASTRO, S.L.; DANTAS, A.P.; VALENTE, P.H.M.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 105-112, 2001.

MARQUELE F. D.; DI MAMBRO V. M.; GEORGETTI S.R.; CASAGRANDE R.; VALIM Y. M. L.; FONSECA M. J. V. Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** 39(3-4): 455–62. 2005.

MASON, T. J., VINATORU, M., MASON, T. J., & CALINESCU, I. Ultrasonically Assisted Extraction (UAE) and Microwave Assisted Extraction (MAE) of Functional Compounds from Plant Materials Trends in Analytical Chemistry Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functi. **Trends in Analytical Chemistry**, 97(October), 159–178, 2017.

MATSUI, T.; E BUCHI, S.; F UJISE, T.; A BESUNDARA, K.J.M.; D OI, S.; YAMADA, H.; MATSUMOTO, K. Strong antihyperglycemic effects of water-soluble fraction of Brazilian própolis and its bioactive constituent, 3,4,5-tri-o-caffeoylquinic acid. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.27, n.11, p.1797-1803, 2004.

MATSUNO, T.; MATSUMOTO, Y.; SAITO, M.; MORIKAWA, J.; SAITO, M. **Antitumor benzopyran derivative of propolis**. **Chemical Abstracts**, v.127, p.39814j, 1997.

MEDINA-TORRES, N., AYORA-TALAVERA, T., & ESPINOSA-ANDREWS, H. **Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources**, 2017.

MURATA, K.; YATSUNAMI, K.; FUKUDA, E.; ONODERA, S.; MIZUKAMI, O.; HOSHINO, G.; KAMEI, T. Antihyperglycemic effects of propolis mixed with mulberry leaf extract on patients with type 2 diabetes. **Alternative Therapies in Health and Medicine**, v.10, n.3, p.78-79, 2004.

NAGAI, T.; INOUE, R.; INOUE, H.; SUZUKI, N. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. **Food Chemistry**, v. 80, p. 29-33, 2003.

NOTHENBERG, M.; **Química e Derivados**, v.24. 1997.

OFORI-BOATENG, C., LEE, K.T. AND MENSAH, M. The Prospects of Electricity Generation from Municipal Solid Waste (MSW) in Ghana: A Better Waste Management Option. **Fuel Processing Technology**, 110, 94-102, 2013.

OLIVEIRA, D.A.; Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (vitis vinífera) das variedades Merlot e Syrah. 2010

ORSOLIC, N.; KOSALEC, I.; BASIC, I. Synergistic antitumor effect of polyphenolic components of water soluble derivative of propolis against Ehrlich ascites tumour. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.28, n.4, p.694-700, 2005.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Classificação da própolis brasileira a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Mensagem Doce**. V.58, n.3-7. 2000.

PAULINO, N.; DANTAS, A.P.; BANKOVA, V.; LONGHI, D.T.; SCREMIN, A.; CASTRO, S.L. DE; CALIXTO, J.B. Bulgarian propolis induces analgesic and anti-inflammatory effects in mice and inhibits in vitro contraction of airway smooth muscle. **Journal of Pharmacological Sciences**, V.93, N.3, P.307-313, 2003.

PENA, R. C. Propolis Standardization: a chemical and a biological review. **Cien. Inv. Agr.**, vol. 35, No. 1, p. 11 - 20, 2008.

PEREIRA, A.S.; SEIXAS, F.R.M.; AQUINO NETO, F.R. de. Própolis: 100 anos de pesquisas e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

PEREIRA, D. S. et al. Histórico e principais usos da própolis apícola. **Agropecuária Científica no Semiárido**, V. 11, n. 2, p. 01-21, abr – jun , 2015.

PRODANOV, C. C.; FREITAS, E. C. **Metodologia do trabalho científico: Métodos e técnicas da pesquisa e do trabalho acadêmico** (2nd ed.), 2013.

PEREIRA, A.S.; SEIXAS, F.R.M.; AQUINO NETO, F.R. de. Própolis: 100 anos de pesquisas e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

SANTOS, M.J., VIANNA, L.A.C., GAMBA, M.A. Avaliação da eficácia da pomada de própolis em portadores de feridas crônicas. **Acta Paul Enferm**, v. 20, n.2, p. 199-204, 2007.

- SAVI, P.R.S.; SANTOS, L.; GONÇALVES, A. M.; BIESEK, S.; LIMA, C.P. Análise de flavonoides totais presentes em algumas frutas e hortaliças convencionais e orgânicas mais consumidas na região Sul do Brasil. 2017.
- SARTORI, A., NAGAHASHI, A.M., YOSHIDA, E.L.A., et al. Efeito leshanicida da própolis. IV **Congresso Iberolatinoamericano de Apicultura**, I Foro Expo-comercial Internacional de Apicultura. Anais, 1994.
- SFORCIN, J. L.; FERNANDES JR, A.; LOPES, C. A. M.; BANKOVA, V.; FUNARI, S. R. C. Seasonal effect on brazilian propolis antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p. 243-249, 2000.
- SFORCIN, J.M.; FERNANDES, A.; JR. LOPES, C.A.M.; FUNARI, S.R.C.; BANKOVA, V. Seasonal effect of Brazilian propolis on *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. **Journal of Venomous Animals and Toxins**. 7, 139-144. 2001.
- SFORCIN, J.M.; BANKOVA, V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? **J. Ethnopharmacol.** 133, 253–260. 2011.
- SILVA, M.S.S., CITÓ, A.M.G.L., CHAVES, M.H., et al. Triterpenóides tipo cicloartano de própolis de Teresina PI. **Quim Nova**, v.28, n.5, p. 801-804, 2005.
- SILVA, B. B. **Caracterização da própolis vermelha**: sua origem botânica e o efeito sazonal sobre sua composição química e atividade biológica. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba/SP. 2008.
- SURAN, J. et al. Propolis Extract and Its Bioactive Compounds—From Traditional to Modern Extraction Technologies. **Molecules**, 2021.
- SONG, Y.S.; PARK, E.H.; JUNG, K.J.; JIN. C. Inhibition of angiogenesis by propolis. **Archives of Pharmacal Research**, v.25, n.4, p.500-504, 2002.
- SUZUKI, I.; TAKAI, H.; KOIDE, M.; YSMAMOTO, H. Anti tumoreffect of immunologically active fractions obtained from Brazilian propolis, given in combination with anticancer drug in Ehrlich carcinoma bearing mice. **Mitsubachi Kagaku**, v.17, p.1-6, 1996.
- TAKAI, H.; YAMAMOTO, H.; SUZUKI, I. The effect against antitumor and recovery of leukopenia by combined use of water soluble propolis and antitumor drug (5-FU) **Igaku to Seibutsugaku**, v.132, p.311-316, 1996.
- ZHIYANG TENG, DUY-TIN VO, AND YUE ZHANG. Context-Sensitive Lexicon Features for Neural Sentiment Analysis. In: **Proceedings of the 2016 Conference on Empirical Methods in Natural Language Processing**, 2016.
- TIAN, Y., XU, Z., ZHENG, B., & MARTIN LO, Y. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.20, n.1, p.202–208, 2013.

WEYANT, M.J.; CAROTHERS, A.M.; BERTAGNOLLI, M.E.; BERTAGNOLLI, M.M. Colon cancer chemo preventive drugs modulate integrin-mediated signaling pathways. **Clinical Cancer Research**, v.6, p.949-956, 2000.

YANG, L., YIN, P., FAN, H., XUE, Q., LI, K., LI, X., LIU, Y. Response surface methodology optimization of ultrasonic-assisted extraction of Acer Truncatum leaves for maximal phenolic yield and antioxidant activity. **Molecules**, v.22, n.2, p.1–20, 2017.

ZHOU, Y., ZHENG, J., GAN, R. Y., ZHOU, T., XU, D. P., & LI, H. BIN. Optimization of ultrasoundassisted extraction of antioxidants from the mung bean coat. **Molecules**, v.22, n.4, p.1–13, 2017.