



Análise cromatográfica de extrato de própolis verde e própolis produzido na região oeste do Paraná

CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF GREEN PROPOLIS EXTRACT AND PROPOLIS PRODUCED IN THE WESTERN REGION OF THE PARANÁ

Eduarda Gorre Pereira*, Ricardo Fiori Zara[†], Bruna Nayara de Souza[‡], Gabrielle Caroline Peiter[§], Solange Maria Cottica[¶],

RESUMO

A própolis é o resultado da indispensabilidade das abelhas de selarem a colmeia, a fim de protegê-las de doenças, possíveis intrusos e das adversidades climáticas. É uma mistura medicinal complexa de uso mundial, existem vários tipos de própolis no Brasil, dependendo da vegetação atual, do tipo de abelha e do clima. Este trabalho propõe um estudo com base nas amostras de própolis fornecidas por apicultores do oeste do Paraná e de Minas Gerais, com o objetivo de verificar a qualidade dos compostos fenólicos e flavonoides presentes na própolis do oeste do Paraná em comparação com a própolis verde, para início de produção em escala comercial. O método se fundamenta nos resultados obtidos empiricamente por meio de Cromatografia Líquida de Alta Precisão (CLAE). As amostras de própolis do Paraná apresentaram resultados melhores quando comparadas a própolis de Minas Gerais, já comercializada.

Palavras-chave: Paraná, própolis verde, própolis vermelha, CLAE e compostos fenólicos.

ABSTRACT

Propolis is the result of the need for bees to seal the hive in order to protect them from diseases, possible intruders and weather adversities. It is a complex medicinal mixture of worldwide use, there are several types of propolis in Brazil, depending on the current vegetation, the type of bee and the climate. This work proposes a study based on propolis supplied by beekeepers in western Paraná and Minas Gerais, with the aim of verifying the quality of phenolic compounds and flavonoids present in propolis from western Paraná in comparison with a green propolis. of production on a commercial scale. The method is based on results obtained empirically through High Precision Liquid Chromatography (HPLC). Propolis from Paraná showed better results when compared to propolis from Minas Gerais, which is already commercialized.

Keywords: Paraná, green propolis, red propolis, HPLC and phenolic compounds.



1 INTRODUÇÃO

Própolis é uma denominação utilizada para descrever o produto proveniente de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, colhidas por abelhas (*Apis mellifera*) de flores, brotos e exsudatos de plantas, em que as abelhas agregam secreções salivares, cera e pólen para composição final (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2000). Farmacologicamente a própolis é centro para diversos estudos, devido às propriedades antibacteriana, antifúngica, antiviral, anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral e inúmeras propriedades presentes pela combinação de seus componentes bioativos (RAMOS; MIRANDA, 2007). No entanto, não se deve generalizar as propriedades biológicas da própolis, pois requer um conhecimento da composição para cada tipo.

No Brasil, a própolis é conhecida comumente como um medicamento natural, sendo utilizada como produto medicinal em várias partes do mundo (LUSTOSA et al., 2008). A composição química da própolis é complexa, uma vez, que se deve considerar a origem geográfica, a fonte vegetal disponível, os fatores climáticos e a espécie da abelha. Em regiões geográficas específicas as abelhas de mesma espécie não mudam a composição química de seus produtos, porque visitam as mesmas fontes vegetais (SFORCIN et al., 2017). Foram identificados até o ano 2000 mais de 300 componentes químicos pertencentes aos flavonóides, ácidos aromáticos e ésteres, aldeídos e cetonas, terpenóides e fenilpropanóides, esteróides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos e outros em pequenas quantidades (LUSTOSA et al., 2008).

Um dos principais componentes identificados na própolis são os compostos fenólicos. Esses compostos são originários do metabolismo secundário das plantas e desempenham funções no crescimento e reprodução. Quimicamente, os fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo os grupos funcionais (ANGELO; JORGE, 2007). Geralmente, os compostos fenólicos identificados na própolis pertencem a dois grandes grupos, o fenilpropanóides (ácidos hidroxicinâmicos, flavonóides, ligninas) e o terpenóides (mono, di e triterpenóides) (MATSUDA, 2006).

Compreende-se que a atividade antimicrobiana da própolis está relacionada a sua composição química, assim como as demais propriedades, sendo um fator variável. Os compostos responsáveis pela ação antimicrobiana podem estar relacionados aos flavonoides e ésteres de ácidos fenólicos. Assim como seu alto potencial anti-inflamatório de baixo custo, algumas substâncias isoladas encontradas foram o ácido cafeico, a quercetina, a naringenina e ácido ferúlico. Além das demais atividades, a própolis apresenta atividade antiviral e antioxidante (RAMOS; MIRANDA, 2007).

Neste ano de 2021 o Paraná foi considerado o maior produtor de mel no Brasil, produzindo cerca de 7.229 toneladas de mel, sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor de própolis do país, produzindo cerca de 29 toneladas (CANAL RURAL, 2021; BANCO DO NORDESTE, 2021). Sendo assim o Paraná comporta uma produção de própolis em larga escala, porém recentemente iniciou a produção a nível comercial, logo é necessário realizar análises a respeito da qualidade dessa produção, a própolis paranaense possui qualidade para ser comercializada? (SENAR-PR).

Dessa forma a identificação da quantidade dos compostos fenólicos e flavonoides será realizada por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), devido ao seu alto nível de sensibilidade, seletividade e capacidade de rendimento (ANDRADE, 2017). Dessa forma, o objetivo desse trabalho é utilizar o CLAE para identificar e quantificar os compostos fenólicos e flavonoides da própolis do Oeste do Paraná em comparação a própolis de Minas Gerais, a fim de evidenciar que a própolis produzida no Paraná dispõe da mesma qualidade da própolis verde de Minas.

2 PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DA PESQUISA

2.1 Obtenção da própolis

Na Figura 1, estão as amostras das própolis obtidas através da raspagem de colmeias fornecidas pelos apicultores parceiros, sendo a própolis de Santa Helena (SH) com coloração vermelha, sem odor e de

consistência pegajosa e gosmenta, enquanto a própolis de Minas Gerais tem coloração verde, forte odor de *Artepillin C* (componente do alecrim do campo), tendo consistência pegajosa e dura. Higienizou-se as amostras manualmente., exemplo: retirou-se restos de madeira, insetos e materiais estranhos.

2.2 Preparação do extrato de própolis

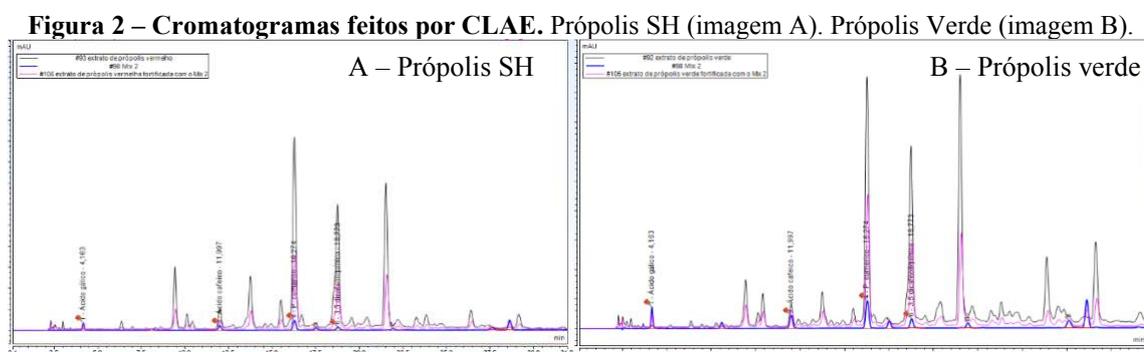
Para a preparação do extrato pesou-se 5 g da amostra em um erlenmeyer de 250 mL e transferiu-se 100 mL de álcool etílico 70% para o mesmo recipiente, que foi acondicionado em Shaker por 2 horas a 140 rotação por minuto (rpm). Após isso, o extrato foi centrifugado por 20 min a 3000 rpm e descartou-se a própolis remanescente, prosseguindo o processo apenas com o extrato diluído. Logo após realizou-se a rotaevaporação do solvente e obteve-se o extrato de própolis desejado (MATSUDA, 2006). O procedimento foi realizado para ambas as amostras.

2.3 Identificação dos compostos fenólicos e flavonoides

A princípio realizou-se uma diluição de 1:10 do extrato de própolis em água ultrapura. Armazenou-se o extrato em frasco âmbar a -20°C. Para a identificação e determinação dos compostos fenólicos e flavonoides utilizou-se um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplado com detector de UV-Vis. As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna de fase reversa C18 (ACE 250 x 4,6 mm) com tamanho de partícula de 5 µm; temperatura do forno 40 °C; comprimento de onda de detecção de 280, 295 e 260 nm; fluxo de 1,0 mL min⁻¹; volume de injeção 20 µL; fase móvel: água ultrapura acidificada com ácido acético 0,5% (pH 3,03): metanol acidificado com ácido acético 0,5% (pH 3,52), com eluição por gradiente. A proporção inicial foi de água: metanol (85:15), com aumento gradual de metanol até 30 minutos (40:60), essa proporção foi aumentada até 35 minutos (5:95), e manteve-se essa proporção até 40 minutos [10].

3 RESULTADOS

A própolis possui uma composição complexa, e algumas de suas propriedades benéficas a saúde advém de compostos bioativos com atividades biológicas, neuroprotetoras, anticancerígenas, anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana, advindas de compostos como o ácido gálico, ácido cafeico, ácido cumárico e o ácido dicafeoilquínico (MOON, 2016; BOCCO, 2013; SOARES, 2002). A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos para a quantificação desses compostos presentes nas amostras de própolis por CLAE, enquanto na Fig. 2 estão os cromatogramas demonstrando os resultados adquiridos.



**Tabela 1 – Análise de componentes individuais por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

Componentes	Própolis Santa Helena	Própolis Verde -MG
	(mg/g)	(mg/g)
Ácido Gálico	0,0156	0,0134
Ácido Cafeico	0,3636	0,1354
Ácido p-cumárico	2,1208	0,9812
3,5-Dicafeoilquinico	2,8724	1,5894

Fonte: Autoria própria (2021).

A própolis verde quando comparada a própolis de Santa Helena possui resultados inferiores, tais resultados podendo ser justificados pela variação das condições climáticas e antrópicas. A própolis verde advém de regiões que sofreram ação antrópicas, áreas de cerrado e zona da mata, com a presença da *Baccharis dracunculifolia* - alecrim do campo. Já a própolis extraída da região de Santa Helena – Paraná está próxima a uma península localizada em um braço do Rio Paraná que abastece a usina de Itaipu, onde é bioma de Mata atlântica preservada (INPI, 2016; VALVERDE, 1958; BARUQUI et al., 1985; ITAIPU).

Para melhorar a qualidade da própolis colocar as colmeias em locais que não tenham muita incidência de luz, umidade e poeira (IAT, 2008; VALVERDE, 1958; BARUQUI et al., 1985). Cada colmeia tem sua particularidade, como qual a melhor época de colheita, para não interromper a produção quando está intensa e não passar do tempo quando as abelhas já a reduziu ou postergou, em épocas em que a alta oferta de néctar e pólen a produção é reduzida. O tipo de abelha influencia na composição da própolis, já que na produção elas acrescentam secreções salivares, então é necessário realizar uma seleção genética do enxame que produz mais e melhor a própolis. Quando são colmeias populosas, porém bem alimentadas e com bom aproveitamento dos espaços ocupados a produção será maior, se tiver saturado de colmeias em uma região a abelhas podem utilizar materiais inusitados e até maléficis a saúde. O material empregado na construção das colmeias também não pode ser tóxico, as técnicas de estímulos devem ser particulares, com cuidado para não levar a exaustão das abelhas, colocando a sobrevivência da colmeia em risco (BASTOS, 2010; BREYER, H. F. E., BREYER, E. D. H., CELLA, I., 2016)

Como a própolis verde é reconhecida mundialmente ela foi utilizada afim de comparação, pois os 4 componentes determinados não possuem especificações pela legislação brasileira. Porém, existem pesquisas com a ocorrência de alguns desses compostos, obtendo os seguintes resultados 1,06 mg/g (ácido cafeico), 0,04 (ácido gálico), 0,18 mg/g (ácido p-cumárico), resultados obtidos através sem conhecimento de sobre a coleta (ANDRADE, 2017; REGUEIRA NETO, 2017). As diferenças encontradas nos valores dos compostos químicos podem ser justificadas devido a pressão sazonal sofrida pela vegetação da qual a abelha extrai a resina, a quantidade de metabolitos primários e secundários pode variar de acordo com o clima chuvoso ou seco, pela origem geográfica, condições climáticas, vegetação próxima as colmeias, época de colheita, técnica empregada para o manejo e espécie de abelha (ANDRADE, 2017; BASTOS, 2010).

4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, acredita-se que a própolis do oeste do Paraná tem amplo potencial para comercialização, a própolis possui resultados promissores de compostos bioativos benéficos a saúde, porém para resultados mais conclusivos sobre a verificação da qualidade seria interessante realizar uma determinação de compostos fenólicos e flavonoides totais. Em relação, a análise realizada no CLAE demonstrou boa precisão e exatidão, no entanto, a pesquisa passou por limitações por ocorrer durante a pandemia do Covid-19, seria interessante a realização de mais estudos.

AGRADECIMENTOS



Deixo meu agradecimento a associação de apicultores da região do oeste do Paraná, aos parceiros do estado de Minas Gerais, ao meu orientador pelo apoio, a Universidade Tecnológica Federal do Paraná e pelo apoio e ao Laboratório Multiusuário da Central Analítica da UTFPR- Campus Toledo.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Julianna et al. **Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region.** Journal Elsevier. São Cristovão-Se. vol. 101. 2017.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. **Compostos Fenólicos em Alimentos: Uma Breve Revisão.** Rev. Inst. Adolfo Lutz., vol.66, n1, São Paulo, 2007.

BANCO DO NORDESTE, **Potencial da Produção de Própolis no Nordeste.** Disponível em: https://bnb.gov.br/web/guest/agronegocio/agroinforma/-/asset_publisher/qg5dL6xAGfoP/contem_t/potencial-da-producao-de-propolis-no-nordeste/3760965?inheritRedirect=false&redirect=https%3a%2f%2fbnb.gov.br%2fweb%2fguest%2fagronegocio%2fagroinforma%3Fp_p_id%3D101_INS_TANCE_qg5dL6xAGfoP%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-1%26p_p_col_pos%3D1%26p_p_col_count%3D2. Acesso em: 10 set. 2021.

BASTOS, Isabella Bicalho Nepomuceno. **PRÓPOLIS:** revisão bibliográfica. Repositório UFMG. Belo Horizonte, 2010. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-952NM6/1/monografia_isabella_bastos.pdf. Acesso em: 10 set. 2021.

BOCCO, BÁRBARA MIRANDA LEITE DA COSTA. **O Efeito Do Ácido Caféico E Do Ácido Ferúlico Sobre A Síndrome Metabólica Em Camundongos.** Repositório Unisfesp. São Paulo, 2013. Disponível em: <http://repositorio.unifesp.br/bitstream/handle/11600/22588/Tese-13729.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 10 set. 2021

BARUQUI, F. M. **Inter-relações solo-pastagens nas regiões Mata e Rio Doce do estado Minas Gerais.** (Dissertação de Mestrado) Solos e Nutrição de Plantas, 1982. Viçosa: UFV, 1982. 119p.

BREYER, Henrique F. E.; BREYER, Ernesto D. H.; CELLA, Ivanir. **Produção E Beneficiamento Da Própolis.** Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri). Florianópolis, 2016. Disponível em: http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_epagri/PRODUCTION-BENEFICIAMENTO-PROPOLIS.pdf. Acesso em: 10 set. 2021.

CANAL RURAL. **Cidade Vira Referência e Coloca Paraná na Liderança da Produção de Mel no Brasil.** São Paulo, abril, ano 2021, 21 abr. 2021. exportação. Disponível em: <https://www.canalrural.com.br/noticias/cidade-vira-referencia-e-coloca-parana-na-lideranca-da-producao-de-mel-no-brasil/>. Acesso em: 10 set. 2021.

IAT. **Clima - Estado Do Paraná.** 2008. mapa. 1:2.000.000. Disponível em: http://www.iat.pr.gov.br/sites/agua-terra/arquivos_restritos/files/documento/2020-07/mapa_climas_a3.pdf. Acesso em: 10 set. 2021.



INPI. **Ficha Técnica De Registro De Indicação Geográfica**. Minas Gerais, 06 set 2016. Disponível em: <https://www.gov.br/inpi/pt-br/servicos/indicacoes-geograficas/arquivos/fichas-tecnicas-de-indicacoesgeograficas/RegiodaPrpolisVerdedeMinasGerais.pdf>. Acesso em: 10 set. 2021.

ITAIPU. **Ecosistema**. Disponível em: <https://www.itaipu.gov.br/meioambiente/ecossistema>. Acesso em: 10 set. 2021

LUSTOSA, S. R. et al. **Própolis: Atualizações Sobre a Química e a Farmacologia**. Revista Brasileira de Farmacognosia, vol.18, n.3, 2008.

MATSUDA, A. H. **Caracterização e Controle de Qualidade de Própolis Proveniente de Diversas Regiões do Brasil**. Universidade de São Paulo, 2006.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Instrução normativa N° 11, de 20 de outubro de 2000 (*). Disponível em: http://www.dourados.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/05/RTIQ-Mel-comPleto-IN-11_2000.pdf. Acesso em: 10 set. 2021.

MOON, P. **Jornal da USP. Estudo Destaca Potencial do Jucá Contra Rugas e Manchas na Pele**. São Paulo, ano 2016, 4 nov. 2016. Ciências da Saúde. Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/ciencias-da-saude/estudo-destaca-potencial-do-juca-contrarugas-e-manchas-na-pele/>. Acesso em: 10 set. 2021.

REGUEIRA NETO, M.S. **Seasonal Variation of Brazilian Red Propolis: Antibacterial Activity, Synergistic Effect and Phytochemical Screening**. Food and Chemical Toxicology. 2017. Disponível em: www.elsevier.com/locate/foodchemtox. Acesso em 16 de out de 2021.

RAMOS, A. F. N.; MIRANDA, J. L. **Propolis: a Review of its Anti-inflammatory and Healing Actions**. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, n.4, vol.13, Botucatu, 2007.

SENAR-PR. **Com Apoio do SENAR-PR, Meliponicultura Decola no Paraná**. Comunicação social – sistema FAEP. 2020. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/noticias/com-apoio-do-senar-pr-meliponicultura-decola-no-parana>. Acesso em 10 de set 2021.

SFORCIN, J. M. et al. **Própolis e Geoprópolis: Uma Herança das Abelhas**. São Paulo: Editora Unesp Digital, 2017

SOARES, Sergio Eduardo. **Ácidos fenólicos como antioxidantes**. Revista de Nutrição. Marília -SP, v. 15, 18 jun 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rn/a/mZxTyVMspZY9WJgC7SSFnbh/?lang=pt>. Acesso em:10 set. 2021.

VALVERDE, O. **Estudo Regional da Zona da Mata de Minas Gerais. Revista Brasileira de Geografia**. Rio de Janeiro, n. 1, 1958. p. 3-79.