



INSTITUTO FEDERAL DE ALAGOAS
***CAMPUS* MACEIÓ**
CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM QUÍMICA

ORLANDO FRANCISCO DA SILVA MOURA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA PRÓPOLIS MARROM E
GEOPRÓPOLIS NO NORDESTE ALAGOANO, BRASIL**

MACEIÓ, AL
2024

ORLANDO FRANCISCO DA SILVA MOURA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA PRÓPOLIS MARROM E GEOPRÓPOLIS
NO NORDESTE ALAGOANO, BRASIL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Licenciatura em Química do Instituto Federal de Alagoas, *campus* Maceió, como requisito parcial para obtenção de grau de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Jonas dos Santos Sousa.

Coorientador: Prof. Dr. Johnnatan Duarte de Freitas.

MACEIÓ, AL

2024



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal de Alagoas
Campus Maceió
Biblioteca Benevides Monte

547.3

M929c Moura, Orlando Francisco da Silva.

Caracterização físico-química da própolis marrom e geopropolis no nordeste alagoano, Brasil [recurso eletrônico] / Orlando Francisco da Silva Moura. – Dados eletrônicos (1 pdf : 9,28 MB). – 2024.

Trabalho com 65 f.

Inclui tabelas, ilustrações. Inclui referências e apêndice.

Orientação: Prof. Dr. Jonas dos Santos Sousa. Coorientação: Prof. Dr. Johnnatan Duarte de Freitas.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) – Instituto Federal de Alagoas, *Campus Maceió*, Maceió, 2024.

1. Química. 2. Compostos bioativos. 3. Produtos apícolas. 4. Compostos orgânicos voláteis – Potencial terapêutico. 5. Própolis. 6. Geopropolis. I. Título.

Franciane Monick Gomes de França
Bibliotecária – CRB 4/1831

ORLANDO FRANCISCO DA SILVA MOURA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA PRÓPOLIS MARROM E GEOPRÓPOLIS
NO NORDESTE ALAGOANO, BRASIL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Licenciatura em
Química do Instituto Federal de Alagoas,
campus Maceió, como requisito parcial para
obtenção de grau de Licenciado em Química.

Aprovado em: 24/10/2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente



JONAS DOS SANTOS SOUSA
Data: 09/12/2024 21:20:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jonas dos Santos Sousa (Orientador)

Instituto Federal de Alagoas - IFAL

Documento assinado digitalmente



JOHNATAN DUARTE DE FREITAS
Data: 19/11/2024 21:11:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Johnatan Duarte de Freitas (Coorientador)

Instituto Federal de Alagoas - IFAL

Documento assinado digitalmente



ELIDA FERNANDA CAVALCANTI MARINS
Data: 02/12/2024 00:27:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dra. Élide Fernanda Cavalcanti Marins

Instituto Federal de Alagoas - IFAL

Documento assinado digitalmente



CRISTIAN BERNARDO DA SILVA
Data: 21/11/2024 09:48:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Sc.M. Cristian Bernardo da Silva

Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Dedico este trabalho aos meus pais, irmãos e especialmente minha noiva, que sempre estiveram me apoiando em todas as escolhas e foram incentivadores desta formação, contribuindo para o meu desenvolvimento, formação e sucesso.

AGRADECIMENTO

A Deus que esteve comigo em todos os momentos e me concedeu determinação, discernimento e determinação nos momentos mais difíceis em toda minha trajetória de vida;

Ao Instituto Federal de Alagoas - Campus Maceió, por ter disponibilizado sua estrutura para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

A minha noiva, por todo o apoio e companheirismo;

Aos meus pais que, desde o início de minha escolarização até o presente momento, foram grandes incentivadores;

Ao Prof. Dr. Jonas dos Santos Sousa, por sua paciência, conhecimento, experiência e incentivo. Sua orientação foi ímpar para o desenvolvimento deste TCC;

Ao Prof. Dr. Johnnatan Duarte de Freitas, por sua colaboração neste trabalho. Pois, quando cursava o Técnico em Química Integrado há 8 anos, fui acolhido como aluno pesquisador, sob sua orientação, nos laboratórios do Instituto Federal de Alagoas. Evento esse, que foi um divisor de águas em minha vida. Sua orientação, conhecimento e experiência foram essenciais para todo o meu desenvolvimento e aprendizado na química e na docência.

Ao meu amigo e parceiro de laboratório Samuel Anderson Calheiros Siqueira da Silva, por ter me auxiliado diversas vezes durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao coordenador e professor Dr. Eduardo Lima dos Santos por sua dedicação e excelência para com os discentes desta instituição de ensino.

Ao corpo docente da Licenciatura em Química do Instituto Federal de Alagoas, os quais foram, sem sombra de dúvidas, essenciais durante minha formação.

RESUMO

A própolis marrom, produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera*, e a geoprópolis, gerada por *Melipona scutellaris*, são amplamente reconhecidas por suas significativas propriedades bioativas, como atividades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias. Este estudo teve como objetivo a caracterização físico-química da geoprópolis do município de Maceió e propolis marrom do município do Pilar. As amostras foram submetidas às extrações por maceração e Soxhlet, seguidas por análises detalhadas do teor de cera, perda por dessecação, teor de cinzas e sólidos solúveis. Os resultados mostraram que a própolis marrom apresentou uma massa mecânica média de 29,65% na extração por Soxhlet e 56,9% na maceração, enquanto a geoprópolis teve teores de massa mecânica de 75,73% e 75,08%, respectivamente. O teor de cera na própolis foi de 22,44% (Soxhlet) e 31,20% (maceração), excedendo o limite legal na maceração. A perda por dessecação foi de 5,81% para a própolis, dentro dos padrões, enquanto a geoprópolis apresentou 4,56%. O teor de cinzas foi de 1,87% para a própolis e 65,22% para a geoprópolis, refletindo uma maior quantidade de material inorgânico na última. A quantificação dos compostos fenólicos revelou 2,02% para a própolis (Soxhlet) e 2,80% (maceração), enquanto a geoprópolis apresentou 2,74% e 2,22%, respectivamente. Os flavonóides totais foram de 0,011% (Soxhlet) e 0,046% (maceração) para a própolis, e 0,039% (Soxhlet) e 1,33% (maceração) para a geoprópolis. A atividade antioxidante, avaliada pelo método DPPH, foi de 31,94% para a própolis (Soxhlet) e 73,81% (maceração), enquanto a geoprópolis apresentou 75,82% (Soxhlet) e 86,11% (maceração). Além disso, a análise de compostos orgânicos voláteis realizada por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas revelou a presença de 66 compostos na própolis marrom e 48 compostos na geoprópolis. A diversidade de compostos voláteis, incluindo ésteres, terpenos e fenóis, ressalta o potencial dessas substâncias para aplicações terapêuticas e industriais. Esses resultados indicam que tanto a própolis quanto a geoprópolis possuem elevados teores de compostos bioativos, destacando-se pela alta atividade antioxidante, o que sugere um considerável potencial terapêutico. A caracterização físico-química dessas substâncias é de grande importância para os municípios do Pilar e Maceió, pois valoriza os recursos naturais locais e abre oportunidades para o desenvolvimento de produtos apícolas com aplicações industriais e medicinais. Além disso, essa pesquisa contribui para o fortalecimento da apicultura na região, promovendo práticas sustentáveis e valorizando a cultura local em um contexto de conservação e saúde.

Palavras-chave: Compostos bioativos. Potencial terapêutico. Produtos apícolas. Compostos orgânicos voláteis. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

The brown propolis, produced by bees of the species *Apis mellifera*, and geopropolis, generated by *Melipona scutellaris*, are widely recognized for their significant bioactive properties, such as antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities. This study aimed to characterize the physicochemical properties of geopropolis from the municipality of Maceió and brown propolis from the municipality of Pilar. The samples underwent extraction by maceration and Soxhlet methods, followed by detailed analyses of wax content, loss on drying, ash content, and soluble solids. The results showed that brown propolis exhibited an average mechanical mass of 29.65% in the Soxhlet extraction and 56.9% in maceration, while geopropolis had mechanical mass contents of 75.73% and 75.08%, respectively. The wax content in propolis was 22.44% (Soxhlet) and 31.20% (maceration), exceeding the legal limit in maceration. The loss on drying was 5.81% for propolis, within standards, while geopropolis showed 4.56%. The ash content was 1.87% for propolis and 65.22% for geopropolis, reflecting a higher amount of inorganic material in the latter. The quantification of phenolic compounds revealed 2.02% for propolis (Soxhlet) and 2.80% (maceration), while geopropolis contained 2.74% and 2.22%, respectively. Total flavonoids were 0.011% (Soxhlet) and 0.046% (maceration) for propolis, and 0.039% (Soxhlet) and 1.33% (maceration) for geopropolis. Antioxidant activity, evaluated by the DPPH method, was 31.94% for propolis (Soxhlet) and 73.81% (maceration), while geopropolis showed 75.82% (Soxhlet) and 86.11% (maceration). Additionally, the analysis of volatile organic compounds conducted by Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry revealed the presence of 66 compounds in brown propolis and 48 compounds in geopropolis. The diversity of volatile compounds, including esters, terpenes, and phenols, highlights the potential of these substances for therapeutic and industrial applications. These results indicate that both propolis and geopropolis possess high levels of bioactive compounds, marked by their strong antioxidant activity, suggesting considerable therapeutic potential. The physicochemical characterization of these substances is of great importance for the municipalities of Pilar and Maceió, as it enhances local natural resources and opens opportunities for the development of apicultural products with industrial and medicinal applications. Additionally, this research contributes to the strengthening of beekeeping in the region, promoting sustainable practices and valuing local culture within a context of conservation and health.

Keywords: Bioactive compounds. Therapeutic potential. Apicultural products. Volatile organic compounds. Antioxidant activity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Procedimento para preparo de curva de calibração de fenóis totais.....	32
Tabela 2: Procedimento para preparo de curva de calibração de flavonoides totais.....	35
Tabela 3 – Composição físico-química e atividade antioxidante da própolis marrom e geoprópolis por diferentes métodos de extração.....	40
Tabela 4 – Absorbância do padrão de ácido gálico em função da concentração.....	43
Tabela 5 – Absorbância do padrão de quercetina em função da concentração.....	45
Tabela 6 – Absorbância do padrão de DPPH• em função da concentração.....	47

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Abelha europeia (<i>Apis mellifera</i>).....	17
Figura 2 – Uruçu nordestina (<i>Melipona scutellaris</i>).....	18
Figura 3 – Moléculas de flavonóides e ácidos fenólicos.....	20
Figura 4 – Estrutura fundamental de um flavonóide.....	20
Figura 5 – Mecanismo entre ácido gálico e reagente de Folin-Denis.....	22
Figura 6 – Complexação entre o $AlCl_3$ e a molécula de quercetina.....	22
Figura 7 – Ilustração de sistema de microextração em fase sólida.....	23
Figura 8 – Mecanismo de reação entre a molécula de DPPH• e um agente antioxidante.....	24
Figura 9 – Mapa de visão de satélite do local de coleta da própolis marrom bruta.....	26
Figura 10 – Mapa de visão de satélite do local de coleta da geoprópolis.....	26
Figura 11 – Ilustração de extração por maceração em um ultrassom.....	27
Figura 12 – Ilustração de sistema de extração por Soxhlet.....	28
Figura 13 – Fragmentos da amostra de própolis marrom de <i>A. mellifera</i>	38
Figura 14 – Amostra de geoprópolis pulverizada.....	38
Figura 15 – Extratos de própolis marrom de <i>A. mellifera</i>	39
Figura 16 – Extratos de geoprópolis marrom de <i>M. scutellaris</i>	39
Figura 17 – Resíduo insolúvel da própolis marrom de <i>A. mellifera</i>	41
Figura 18 – Hexanoato de etila e sua fragmentação m/z.....	49
Figura 19 – Octanoato de etila e sua fragmentação m/z.....	50
Figura 20 – Copaeno e sua fragmentação m/z.....	50
Figura 21 – Trans- α -bergamoteno e sua fragmentação m/z.....	51
Figura 22 – Molécula de eucaliptol e sua fragmentação m/z.....	53
Figura 23 – Molécula de α -Pino e sua fragmentação m/z.....	53
Figura 24 – Molécula de aristoleno e sua fragmentação m/z.....	54
Gráfico 1 – Curva de calibração de compostos fenólicos.....	44
Gráfico 2 – Curva de calibração de flavonóides totais.....	46
Gráfico 3 – Curva de calibração de DPPH•.....	47

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas
C₂H₆O	Álcool etílico
C₇H₆O₅	Ácido gálico
C₁₅H₁₀O₇	Quercetina
cm	Unidade de medida de distância (centímetros)
°C/min	Graus Celsius por minuto
COVs	Compostos orgânicos voláteis
DPPH	2,2-Difenil-1-picrilhidrazil
EM	Espectrometria de massas
eV	Eletronvolt
g	Unidade de medida de massa (gramas)
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
H₃PMo₁₂O₄₀	ácido fosfomolibdico
H₃PW₁₂O₄₀	Ácido fosfotúngstico
INPM	Instituto Nacional de Pesos e Medidas
m/m	Massa por massa
mL	Unidade de medida de volume (mililitros)
Mo₈O₂₃	Óxido de molibdênio
N°	Número
Na₂CO₃	Carbonato de sódio
NIST14	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
nm	Nanômetros
NO₂	Grupo nitro
ODS	Objetivo de Desenvolvimento Sustentável
OH⁻	Íons hidroxila
pH	Potencial hidrogeniônico
R²	Coefficiente de determinação
SPME	<i>Solid Phase Microextraction</i>
µg	Unidade de medida de massa (micrograma)
µg/mL	Unidade de medida de concentração (microgramas por mililitro)
µL	Unidade de medida de volume (microlitro)
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta visível
W₈O₂₃	Óxido de tungstênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
2.1 ABELHAS <i>Apis mellifera</i> E <i>Melipona scutellaris</i>	17
2.2 ASPECTOS GERAIS DA PRÓPOLIS.....	18
2.3 CONSTITUINTES QUÍMICOS DA PRÓPOLIS.....	19
2.4 MÉTODO DE FOLIN-DENIS PARA QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	21
2.5 MÉTODO DE COMPLEXAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOÍDES TOTAIS.....	22
2.6 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA.....	23
2.7 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	24
2.8 PARÂMETROS LEGISLATIVOS E CONFORMIDADES.....	25
3 METODOLOGIA.....	25
3.1 COLETA DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS MARROM E GEOPRÓPOLIS.....	25
3.1.1 Extração por maceração e ultrassom.....	26
3.1.2 Extração por extrator Soxhlet.....	27
3.2 RETIRADA DE MASSA MECÂNICA DOS EXTRATOS OBTIDOS.....	29
3.2.1 Massa mecânica para extrato obtido por maceração e ultrassom.....	29
3.2.2 Massa mecânica para extrato obtido do extrator de Soxhlet.....	29
3.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CERA CONTIDA NOS EXTRATOS.....	30
3.4 PERDA POR DESSECAÇÃO.....	31
3.5 TEOR DE CINZAS.....	31
3.6 TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS.....	31
3.7 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	32
3.8 QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES TOTAIS.....	34
3.9 ANÁLISE DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS POR CG-EM.....	36

3.10 ANÁLISE QUANTITATIVA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR CONSUMO DO RADICAL LIVRE 2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL.....	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	38
4.1 AVALIAÇÃO ORGANOLÉPTICA DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS.....	38
4.2 DETERMINAÇÃO DE MASSA MECÂNICA DOS EXTRATOS OBTIDOS.....	40
4.10 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS ORGÂNICO VOLÁTEIS POR CG-EM.....	48
5 CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	56
APÊNDICE.....	60

1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais, como ervas medicinais, óleos essenciais, mel e própolis tem se consolidado como uma alternativa eficaz e sustentável no campo da saúde e bem-estar. Esses produtos, provenientes de plantas, minerais e substâncias de origem animal, como os extratos de própolis e geoprópolis, contêm uma ampla variedade de compostos bioativos – flavonóides, alcalóides e polifenóis – que oferecem benefícios ao organismo humano. O crescente interesse por essas alternativas, frequentemente empregadas em tratamentos complementares ou como substituição a medicamentos sintéticos, tem impulsionado pesquisas e a caracterização desses produtos, favorecendo o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

Em Alagoas, especialmente nas áreas próximas aos municípios do Pilar e Maceió, as pessoas têm buscado cada vez mais produtos apícolas, como mel, própolis e geoprópolis. Esse crescimento é impulsionado pelo interesse em alternativas naturais e saudáveis, valorizadas tanto pelo seu valor nutricional quanto pelas propriedades medicinais e antioxidantes que oferecem.

A própolis, também conhecida como “cola de abelha”, é uma substância resinosa coletada por abelhas, como a *Apis mellifera L.*, a partir de exsudatos vegetais, utilizada principalmente para proteger suas colmeias contra microrganismos e invasores. Sua composição química é bastante variável e complexa, dependendo da flora local onde é coletada, e inclui resinas, cera de abelha, óleos essenciais, pólen e minerais (BANKOVA, 2005). Marcucci (1995), destaca que essa variação na composição química, associada à origem botânica e geográfica, resulta em diferentes tipos de própolis, como a verde, vermelha, amarela e marrom, cada uma apresentando propriedades biológicas e terapêuticas específicas.

O consumo da própolis tem sido associado a diversos benefícios para a saúde humana, dado o seu potencial terapêutico diversificado. Estudos demonstram que a própolis possui propriedades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, anti-inflamatórias e até antitumorais, o que a torna um recurso valioso na prevenção e no tratamento de várias condições de saúde, como feridas, úlceras, inflamações, doenças cardiovasculares e cânceres (SILVA, H., *et al.*, 2021; KUSTIAWAN *et al.*, 2024; PINHEIRO *et al.*, 2024).

Os efeitos terapêuticos da própolis são atribuídos à sua complexa composição química, que inclui uma ampla gama de compostos bioativos. É considerada um suplemento natural importante para melhorar o sistema imunológico, protege contra agentes patogênicos e

reduz o estresse oxidativo no corpo, contribuindo para a manutenção do bem-estar geral (SHANG *et al.*, 2020).

A geoprópolis, produzida por abelhas sem ferrão, é uma variedade de própolis. Contrário a própolis convencional, este contém uma maior proporção de material inorgânico, como solo ou barro, além das resinas vegetais (KERR, 1987 *apud* DUTRA *et al.*, 2008). Essa composição única confere ao produto características físico-químicas distintas e potenciais efeitos terapêuticos específicos, que também são influenciados pela flora e pelo ambiente de coleta (DUTRA, 2006). A crescente popularidade da geoprópolis nos últimos anos, reforça a necessidade de estudos que aprofundem o entendimento sobre suas propriedades biológicas e seus benefícios para a saúde humana.

A caracterização físico-química detalhada dos materiais específicos dos municípios do Pilar e Maceió, no estado de Alagoas, incluindo a própolis marrom de *Apis mellifera* e a geoprópolis de *Melipona scutellaris*, é crucial. A identificação e quantificação de compostos fenólicos, flavonóides, compostos orgânicos voláteis e a determinação da atividade antioxidante dessas amostras, além de aspectos como: umidade, teor de cera e massa residual, são etapas fundamentais para garantir a qualidade, confiabilidade e benefícios dos produtos derivados dessas fontes locais.

A caracterização dos produtos naturais, como a própolis e a geoprópolis, estão alinhados ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 3, que busca garantir saúde e bem-estar para todos. Os estudos e as padronizações adequadas desses produtos, podem ampliar o acesso a terapias naturais seguras e eficazes, promovendo a saúde pública. Além disso, o uso desses produtos locais contribui para a sustentabilidade e valorização dos recursos regionais, beneficiando a saúde humana e o desenvolvimento econômico da região. Fortalecer o conhecimento sobre suas propriedades bioativas permite integrá-los ao sistema de saúde, promovendo o bem-estar coletivo de forma sustentável.

Assim, os objetivos desse trabalho foram a caracterização físico-química detalhada dos materiais obtidos especificamente dos municípios de Pilar e de Maceió, no estado de Alagoas, incluindo a própolis marrom de *Apis mellifera* e a geoprópolis de *Melipona scutellaris*, tendo em vista todo potencial químico e efeitos terapêuticos que apresentam. A identificação e quantificação de compostos fenólicos, flavonoides, compostos orgânicos voláteis, determinação da atividade antioxidante, análises de umidade, teor de cera e massa residual dessas amostras, são etapas fundamentais que garantem a qualidade, confiabilidade e benefícios dos produtos provenientes dessas fontes locais.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ABELHAS *Apis mellifera* E *Melipona scutellaris*

As abelhas são insetos da ordem *Hymenoptera* e da família *Apidae*, possuem cerca de 20 mil espécies descritas, entre essas, as do gênero *Apis mellifera* (figura 1) são especialmente valiosas para a polinização e desempenham um papel fundamental na agricultura, por produzirem mel, geléia real, cera, pólen e própolis. São insetos sociais e vivem em colônias altamente organizadas, onde cada colmeia pode abrigar 60 mil abelhas, em torno de uma única rainha, dezenas de zangões e milhares de operárias. A prática da apicultura, realizada pela exploração racional dos produtos das abelhas, tem origem aproximada em 2400 a.C. e sua história remonta a mais de 40 mil anos, sendo distribuídas pela Europa, África e Ásia. (RAMOS e CARVALHO, 2007).

Figura 1 – Abelha europeia (*Apis mellifera*).



Fonte: Ryan Hodnett, 2018.

A própolis, produzida pelas abelhas do gênero *Apis mellifera*, é uma resina obtida de exsudatos vegetais, misturada com cera e outros componentes. Este produto é amplamente reconhecido por suas propriedades antimicrobianas e terapêuticas, tornando-se um recurso valioso tanto na medicina tradicional quanto na moderna (BANKOVA, 2005).

A *Melipona scutellaris* (figura 2), conhecida como uruçú nordestina, é uma abelha nativa da mata atlântica, tem preferência por locais úmidos e grandes árvores para construir seus ninhos. O termo “uruçú” vem do tupi “eirú su” que significa “grande” e é usado para descrever espécies no Nordeste e na região Norte do Brasil, devido ao seu tamanho e

significativa produção de mel. São muito apreciadas por serem de fácil manuseio, por apresentarem comportamento pacífico, e por desempenharem importante papel na manutenção da biodiversidade e equilíbrio ecológico pela polinização, processo que se interrompido impactaria seriamente o meio ambiente (MELO *et al.*, 2022).

Figura 2 – Uruçu nordestina (*Melipona scutellaris*).



Fonte: Rafael *apud* Melo *et al.*, 2022.

2.2 ASPECTOS GERAIS DA PRÓPOLIS

A própolis, assim como o mel, é reconhecida ao longo da história por suas qualidades terapêuticas. Ela é composta por uma combinação de substâncias que as abelhas, especialmente da espécie *Apis mellifera*, recolhem a partir de resinas vegetais. As abelhas utilizam essa mistura para selar a colmeia, protegendo-a contra a entrada de intrusos e microrganismos. Sua composição típica inclui resinas (40% a 60%), cera de abelha (20% a 40%), óleos essenciais (10%), pólen (5%) e minerais (2%) (MARCUCCI, 1995).

A própolis tem sido utilizada há séculos na medicina tradicional em diferentes partes do mundo (GISALVERTI, 1979). Pesquisas indicam a existência de diversos tipos de própolis, cada um com propriedades biológicas variadas, incluindo efeitos citotóxicos, anti-herpéticos, antitumorais, antioxidantes, antimicrobianos, antifúngicos e anti-HIV (SILVA, C., *et al.*, 2019). Devido a essas propriedades, a própolis é frequentemente incorporada à alimentação para ajudar na prevenção de doenças como inflamações, problemas

cardiovasculares, diabetes e câncer (SILVA *et al.*, 2021; KUSTIAWAN *et al.*, 2024; PINHEIRO *et al.*, 2024).

Comercialmente, a própolis tem ganhado destaque tanto no mercado nacional quanto internacional de produtos apícolas. Anualmente, o Brasil exporta cerca de 160 toneladas (BERLATO, 2023). Esse reconhecimento se deve principalmente às diversas atividades biológicas associadas aos seus componentes químicos. Como resultado, houve um aumento no valor agregado do produto, tornando-se um dos principais indicadores da cadeia produtiva da apicultura (TEIXEIRA, 2003).

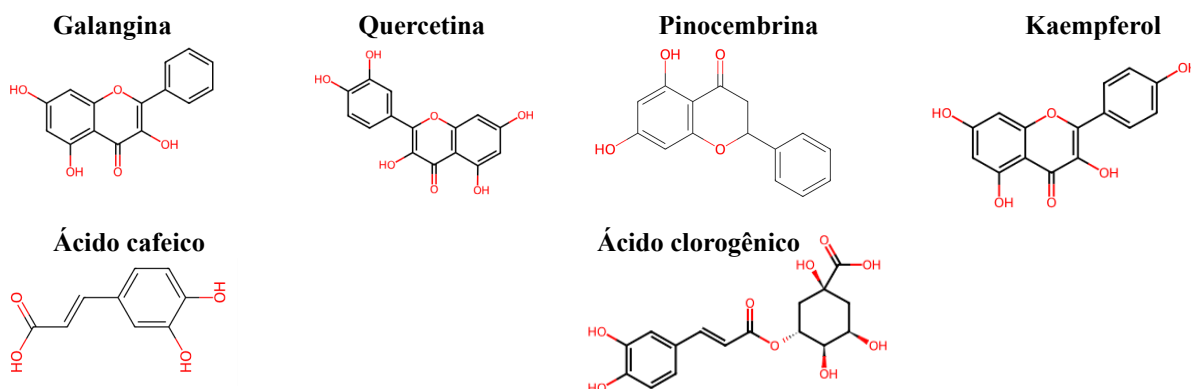
Em todo o território brasileiro, existem diversas plantas apícolas Alecrim – Eucalipto dentre outras – que fornecem substrato para a formação e síntese da própolis. A ampla diversidade da flora brasileira, o período de coleta das resinas, a genética das abelhas e a região geográfica contribuem para a variada composição química da própolis. Suas propriedades químicas possuem um valor farmacológico significativo, sendo valorizadas como um complexo natural, e não apenas como uma fonte de compostos isolados (BANKOVA, 2005; DAUGSCH *et al.*, 2008).

2.3 CONSTITUINTES QUÍMICOS DA PRÓPOLIS

A composição química da própolis tem sido investigada desde o século passado por diversos autores como Marcucci e Ghisalberti. Suas propriedades são atribuídas pela composição dos seus constituintes químicos e as atividades biológicas podem variar conforme o tipo e a sua origem botânica. A cor da própolis pode apresentar variações que vão do vermelho ao amarelo, passando por tons de verde claro até o marrom escuro (DUTRA, 2006).

A própolis contém uma variedade de compostos químicos, incluindo flavonóides como galangina, quercetina, pinocembrina e kaempferol; ácidos aromáticos e seus ésteres; aldeídos e cetonas; terpenóides e ácidos fenólicos como os ácidos cafeico e clorogênico; além de esteróides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos e ácidos graxos, entre outros em quantidades menores (De-MELO *et al.*, 2014) (figura 3). Dentre esses compostos, os flavonóides têm despertado um interesse crescente na pesquisa. Eles, assim como os ácidos fenólicos, são conhecidos por suas propriedades antibacterianas, antivirais e antioxidantes (VOLPI; BERGONZINI, 2006).

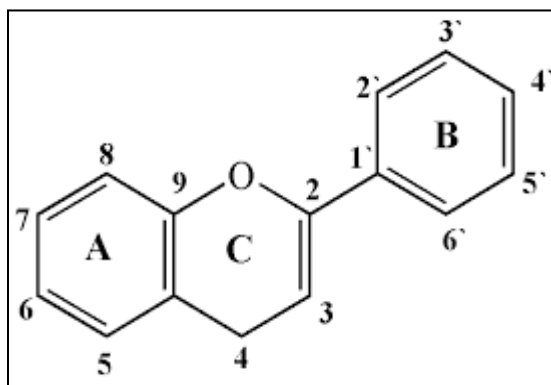
Figura 3 – Moléculas de flavonóides e ácidos fenólicos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os flavonóides, são os compostos mais variados no reino vegetal, possuem uma estrutura fundamental de dois anéis aromáticos e um grupamento pirona (figura 4). Eles se dividem em várias classes principais, como antocianinas, flavonas, flavonóis, flavanonas e isoflavonóides. A diversidade entre eles está na estrutura ao redor do anel de oxigênio heterocíclico, o que resulta em sua presença em diferentes fontes naturais: as flavanonas são predominantes em frutas cítricas, as flavonas em ervas, e os isoflavonóides em leguminosas (SILVA, L., *et al.*, 2015).

Figura 4 – Estrutura fundamental de um flavonóide.



Fonte: Heim *et al.*, 2002.

Uma característica importante dos flavonóides é sua função defensiva nas plantas. Eles desempenham um papel crucial na absorção de radiação ultravioleta (UV) e visível, protegendo as plantas dos danos causados pela luz solar. Além disso, os flavonóides atuam como barreiras químicas contra microrganismos como fungos, bactérias e vírus, bem como contra herbívoros e insetos. Eles também facilitam a polinização ao atrair insetos para o

néctar, promovendo relações benéficas entre as plantas e seus polinizadores (MARCUCCI, 1995).

Uma das propriedades químicas mais relevantes associadas aos flavonóides é sua atividade antioxidante, que está diretamente ligada à sua estrutura química e capacidade redutora. A atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes na própolis é atribuída, em grande parte, a essas propriedades redutoras, que permitem a neutralização de radicais livres e a quelagem de metais de transição, atuando tanto na fase de iniciação quanto na propagação do processo oxidativo (SOUZA *et al.*, 2007).

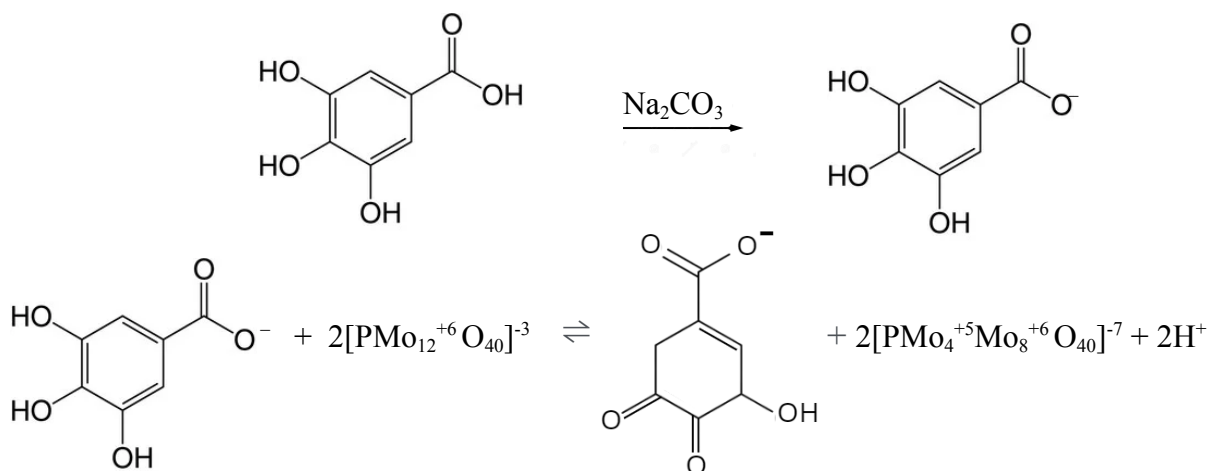
A própolis possui capacidade de modular o sistema imunológico, podendo estimular ou inibir aspectos da resposta imune, o que a torna promissora como agente imunoestimulante, no controle de inflamações e no combate a tumores. No entanto, os estudos sobre seus impactos imunológicos apresentam resultados muitas vezes inconclusivos ou contraditórios, devido a variações metodológicas e à grande diversidade na composição química das amostras (SANTIAGO *et al.*, 2023).

2.4 MÉTODO DE FOLIN-DENIS PARA QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O princípio da metodologia para quantificação de compostos fenólicos totais consiste no ensaio colorimétrico que utiliza o reagente Folin-Denis. Trata-se de um método espectrofotométrico simples baseado na interação de substâncias redutoras com esse reagente específico. O reagente Folin-Denis é composto por ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), ambos de coloração amarela em sua forma original (PIRES *et al.*, 2017).

Em um ambiente alcalino ($pH > 7$), os compostos fenólicos dissociam um próton, formando ânions fenolatos. Esses ânions têm a capacidade de reduzir o reagente Folin-Denis, resultando na formação de óxido de tungstênio (W_8O_{23}) e óxido de molibdênio (Mo_8O_{23}), com base na figura 5. Estes óxidos apresentam coloração azul, detectável na faixa espectral de 760 nm, permitindo a quantificação precisa das substâncias redutoras por espectrofotometria (GENOVESE *et al.*; IKAWA *et al.*; HUANG *et al.* *apud* PIRES *et al.*, 2017).

Figura 5 – Mecanismo entre ácido gálico e reagente de Folin-Denis.

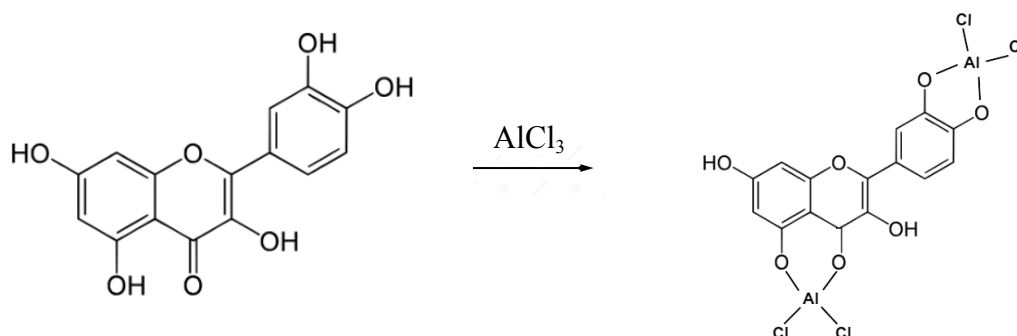


Fonte: Pires *et al.*, 2017.

2.5 MÉTODO DE COMPLEXAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS

Para quantificar os flavonóides totais, sem a interferência de outros compostos fenólicos, é comum empregar o método colorimétrico com cloreto de alumínio (AlCl_3) para o tratamento das amostras analisadas. De acordo com Mabrey *et al.* (1970), o AlCl_3 reage com os grupos hidroxila (OH^-) presentes na estrutura molecular dos flavonóides, formando um complexo estável com o íon Al^{3+} , conforme ilustrado na figura 6.

Figura 6 – Complexação entre o AlCl_3 e a molécula de quercetina.



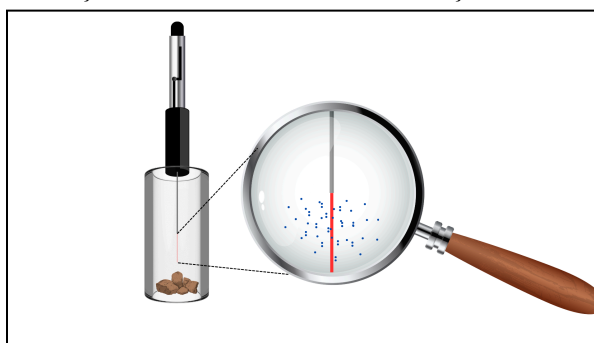
Fonte: Mabrey *et al.*, 1970 apud Peixoto, 2012.

2.6 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

Segundo Valente e Augusto (1999), a Microextração em Fase Sólida (SPME) é uma técnica que permite a extração e pré-concentração de analitos de forma eficiente, utilizando uma abordagem em microescala menos usual.

A técnica dispõe uma fibra de sílica fundida revestida com um polímero ou material adsorvente, que funciona como uma gota de solvente orgânico, capturando as moléculas da amostra. Conforme a figura 7, a fibra é mergulhada no analito ou no "headspace" (espaço de gás ou vapor que fica acima da superfície de um líquido ou sólido em um recipiente fechado), onde os analitos se transferem para o revestimento até alcançar o equilíbrio de partição (VALENTE e AUGUSTO, 1999). Posteriormente, a SPME é introduzida a um cromatógrafo gasoso acoplado a um detector extremamente sensível.

Figura 7 – Ilustração de sistema de microextração em fase sólida.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Segundo Collins *et al.* (1997) a cromatografia é um método de separação de misturas físico-químico onde os componentes irão interagir entre uma fase estacionária e uma fase móvel, de modo que o analito é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando na separação entre os componentes. Um sistema de cromatografia gasosa utiliza um gás como fase móvel e, por conta disso, há uma vantagem com relação ao equilíbrio entre as fases (COLLINS *et al.*, 1997).

No caso da análise de compostos orgânicos voláteis presentes na própolis bruta de *A. mellifera* e na geoprópolis de *M. scutellaris*, essa técnica se torna especialmente relevante, pois permite a separação eficiente desses compostos devido à sua volatilidade e ao fato de serem termicamente estáveis.

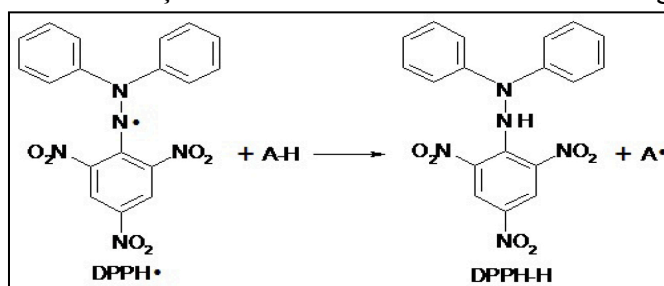
A espectrometria de massas (EM) é uma técnica analítica que possibilita a determinação das massas e relações massa-carga (m/z) de íons em uma amostra (CHIARADIA, *et al.* 2007). O procedimento compreende a vaporização e ionização da amostra, a subsequente separação dos íons com base em suas massas e cargas, e a detecção das quantidades relativas dos íons em função do m/z . Essa abordagem é amplamente utilizada em diversas áreas da pesquisa científica, permitindo a identificação e quantificação de componentes em amostras (CHIARADIA, *et al.* 2007).

2.7 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Radicais livres, como explica Martinez *et al.* (2006, *apud* OLIVEIRA, 2015), são moléculas com elétrons desemparelhados, o que os torna instáveis e altamente reativos. No entanto, o radical DPPH• (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil) apresenta uma estabilidade única devido à sua estrutura química, que inclui três anéis aromáticos com efeito de ressonância, crucial para estabilizar sua carga eletrônica. Essa estabilidade adicional resulta do deslocamento do elétron desemparelhado através de três grupos nitro (NO_2) e dois átomos de nitrogênio, facilitando a deslocalização de elétrons (OLIVEIRA, 2015).

Para avaliar a atividade antioxidante das própolis, é comum utilizar o radical livre estável DPPH• (2,2-Difenil-1-picril-hidrazila) em solução de metanol. De acordo com Brand-Williams *et al.* (1995), a redução do DPPH• é monitorada pela diminuição de sua absorbância a 515 nm. Na forma radical, o DPPH• possui uma forte absorção nessa faixa de comprimento de onda. No entanto, quando é neutralizado por antioxidantes, como os encontrados nas própolis de *A. mellifera* e na geoprópolis de *M. scutellaris*, essa absorção diminui. O mecanismo de ação, detalhado na figura 8, ilustra como os radicais livres são neutralizados.

Figura 8 – Mecanismo de reação entre a molécula de DPPH• e um agente antioxidante.



Fonte: Oliveira, 2015.

Essas reações demonstram como a capacidade antioxidante das própolis pode ser quantificada, reforçando a importância de seus compostos fenólicos e outros antioxidantes na neutralização de radicais livres (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).

2.8 PARÂMETROS LEGISLATIVOS E CONFORMIDADES

A legislação brasileira, por meio da Instrução Normativa SDA nº 03, de 19 de janeiro de 2001, estabelece parâmetros rigorosos para a qualidade da própolis. Esses padrões incluem limites específicos para a quantidade de cera, umidade, cinzas, compostos fenólicos e flavonoides, visando garantir um produto seguro e com propriedades terapêuticas adequadas.

Em relação à cera, o regulamento estipula um teor máximo de 25% (m/m). Este limite visa evitar que o excesso de cera dilua os compostos bioativos. Quanto à umidade, a perda por dessecação não deve exceder 8% (m/m), segundo a Instrução Normativa, para evitar degradação dos compostos bioativos e proliferação de micro-organismos. Para as cinzas, representando o conteúdo mineral da própolis, a legislação fixa um limite de 5% (m/m). Esse valor visa garantir a pureza do produto e evitar contaminações indesejadas (BRASIL, 2001a).

Os compostos bioativos, como compostos fenólicos e flavonoides, possuem níveis mínimos exigidos. De acordo com o Anexo VI do regulamento, a própolis deve conter ao menos 5% (m/m) de compostos fenólicos para assegurar sua atividade antioxidante e antimicrobiana. No caso dos flavonoides, o regulamento exige um mínimo de 0,5% (m/m) para a própolis bruta e 0,25% (m/m) para o extrato de própolis (Anexo VII). Assim, ao observar esses padrões, é possível garantir a qualidade da própolis no mercado, assegurando que os produtos estejam em conformidade com os requisitos nacionais de pureza, segurança e eficácia.

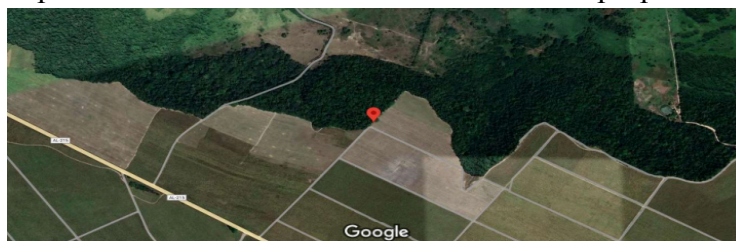
3 METODOLOGIA

3.1 COLETA DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS MARROM E GEOPRÓPOLIS

A amostra de própolis marrom bruta de *A. mellifera* foi coletada e retirada cuidadosamente da parte interna das caixas de abelhas. A amostra, coletada no dia 13 de julho de 2024, estava localizada na região litorânea (zona da mata alagoana), município do Pilar,

estado de Alagoas, Nordeste do Brasil sob as seguintes coordenadas geográficas: 9°39'34.0"S 35°59'11.6"W (figura 9).

Figura 9 – Mapa de visão de satélite do local de coleta da própolis marrom bruta.



Fonte: *Google maps*, 2024.

A geoprópolis de *M. scutellaris* foi retirada no dia 21 de julho de 2024. Em seguida, foi pulverizada e armazenada em um recipiente adequado. A amostra estava localizada em Maceió, estado de Alagoas, Nordeste do Brasil, sob as seguintes coordenadas geográficas: 9°34'54"S 35°47'26"W (figura 10).

Figura 10 – Mapa de visão de satélite do local de coleta da geoprópolis.



Fonte: *Google Earth*, 2024.

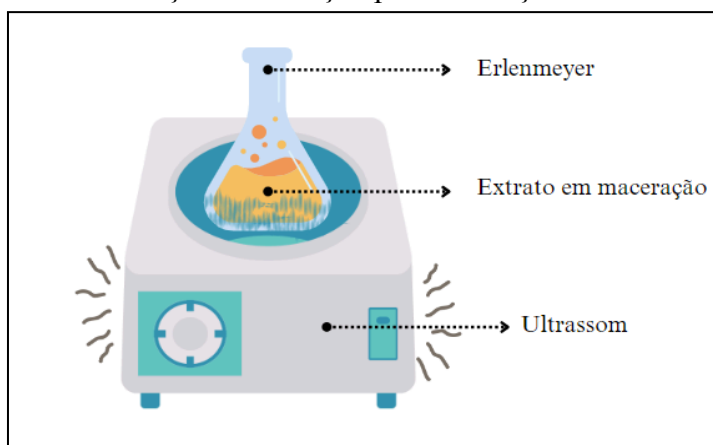
3.1.1 Extração por maceração e ultrassom

As amostras de própolis marrom bruta de *A. mellifera*, previamente tratada e fragmentada, foram submetidas ao processo de extração por maceração e ultrassom. Seguiu-se o método adaptado de Cunha *et al.* (2004). Em um erlenmeyer de 250 mL, pesou-se cerca de 22,5 g da amostra, logo em seguida, foram adicionados ao erlenmeyer aproximadamente 84 mL de álcool etílico 96° INPM e 22,5 mL de água destilada, resultando na proporção 1:3:1 m/m. O mesmo método foi aplicado às demais amostras em triplicata.

O erlenmeyer contendo o material foi transferido para uma lavadora ultrassônica Cristófoli por 15 minutos. Após a extração por ultrassom, a amostra foi mantida em contato com o solvente extrator por 7 dias, à temperatura ambiente e protegida da luz. Durante esse

período, a amostra foi agitada manualmente por 10 minutos, uma vez ao dia. Ao término da extração, o extrato de própolis marrom foi refrigerado à uma temperatura de $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas para precipitação de cera de abelha e outros materiais insolúveis (WOISKY, 1996 *apud* BARRETO *et al.*, 2020). A figura 11 ilustra o sistema utilizado para obtenção dos extratos por maceração assistidos em ultrassom.

Figura 11 – Ilustração de extração por maceração em um ultrassom.



Fonte: Elaborado pelo autor.

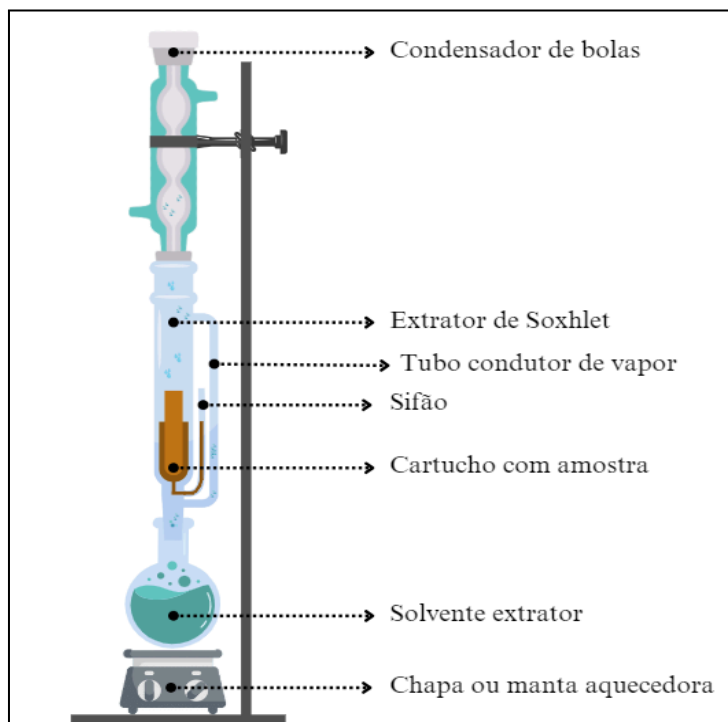
3.1.2 Extração por extrator Soxhlet

Inicialmente, conforme descrito por Barreto *et al.* (2020), a amostra de própolis marrom bruta de *A. mellifera* coletada foi previamente tratada para a remoção de impurezas (abelhas mortas, poeira, madeira e outros detritos). Em seguida, foi armazenada em um congelador por 24 horas para facilitar o processo de fragmentação. Decorrido esse tempo, a própolis marrom bruta congelada foi retirada e fragmentada em um almofariz de porcelana. Em uma balança analítica, pesou-se aproximadamente 2,5 g de própolis marrom bruta fragmentada e confeccionou-se um cartucho com papel de filtro qualitativo, que foi posteriormente pesado em uma balança analítica (WOISKY, 1996 *apud* BARRETO *et al.*, 2020).

Em um balão de fundo chato de 250 mL, adicionou-se 170 mL de álcool etílico ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) 96° INPM. A massa de própolis marrom bruta previamente pesada foi transferida para o cartucho de papel de filtro qualitativo. Em seguida, o cartucho foi inserido no extrator de Soxhlet. O balão contendo $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ foi acoplado ao extrator de Soxhlet. Por fim, um

condensador de bolas foi conectado à saída superior do Soxhlet para a condensação do vapor de solvente (figura 12).

Figura 12 – Ilustração de sistema de extração por Soxhlet.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Com o sistema de extração de Soxhlet montado, ligou-se a chapa de aquecimento até o ponto de ebulição do solvente. A extração foi mantida sob refluxo durante 8 horas. Ao término da extração, o extrato de própolis marrom foi guardado na geladeira e mantido sob refrigeração à -15 °C por 24 horas (WOISKY, 1996 *apud* BARRETO *et al.*, 2020). O mesmo procedimento foi realizado para as amostras de geoprópolis de *M. scutellaris*.

Após a obtenção dos extratos, foi realizada uma análise organoléptica para observar as características visuais das amostras, tanto na forma de extrato quanto em sua forma bruta.

3.2 RETIRADA DE MASSA MECÂNICA DOS EXTRATOS OBTIDOS

3.2.1 Massa mecânica para extrato obtido por maceração e ultrassom

Após 7 dias da finalização da extração por maceração, retirou-se o material insolúvel (partículas escuras) do extrato por meio de uma filtração sob baixas pressões e o material filtrado foi transferido para uma placa de petri previamente pesada. Em seguida, o material insolúvel foi submetido à secagem em uma estufa a 105 °C por 120 minutos. Após a saída do material seco da estufa, o mesmo foi transferido para um dessecador por 30 minutos até seu total resfriamento (BARRETO *et al.*, 2020). Posteriormente, a massa mecânica da própolis marrom bruta de *A. mellifera* foi determinada por meio do cálculo da razão entre a massa insolúvel obtida e a massa de própolis bruta utilizada na extração. Aplicou-se o mesmo procedimento metodológico para as amostras de *M. scutellaris*.

3.2.2 Massa mecânica para extrato obtido do extrator de Soxhlet

Ao término da extração de Soxhlet, retirou-se o cartucho do extrator com a ajuda de uma pinça metálica. Em seguida, o cartucho contendo o material insolúvel em etanol foi colocado em um vidro de relógio e levado à capela de exaustão por 45 minutos, a fim de evaporar o excesso de solvente.

Posteriormente, o material foi submetido à secagem em uma estufa a 105 °C por 120 minutos. Após isso, com o auxílio de uma tenaz, retirou-se o cartucho seco e colocou-se em um dessecador, onde permaneceu por 30 minutos até esfriar (BARRETO *et al.*, 2020). Com uma pinça metálica, retirou-se o cartucho contendo a massa mecânica do dessecador e, em uma balança analítica, pesou-se o cartucho.

Na sequência, a massa mecânica da própolis marrom bruta de *A. mellifera* foi determinada por meio do cálculo da razão entre a massa retida no cartucho e a massa de própolis bruta utilizada na extração de Soxhlet. O mesmo procedimento foi seguido para determinação de massa mecânica para as amostras de geoprópolis de *M. Scutellaris*.

3.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CERA CONTIDA NOS EXTRATOS

Um balão de fundo chato de 250 mL contendo o extrato de própolis marrom de *A. mellifera* extraído por Soxhlet, previamente mantido sob refrigeração à -15 °C por 24 horas com o objetivo de precipitar a cera, foi colocado no congelador por 30 minutos. Feito isso, pesou-se um papel de filtro qualitativo e, em seguida, secou-se em uma estufa a 105 °C por 60 minutos, sendo posteriormente resfriado em um dessecador por 30 minutos (BARRETO *et al.*, 2020).

Em um kitassato de 500 mL, acoplou-se uma bomba a vácuo à saída lateral da vidraria, conectou-se um funil de Büchner ao kitassato com a ajuda de uma alonga de borracha e, por fim, colocou-se no funil de Büchner o papel de filtro previamente seco e pesado.

Verteu-se o balão contendo o extrato de própolis no funil de Büchner e realizou-se a filtração à vácuo sob baixas pressões. Em seguida, lavou-se o material residual do balão com 3 porções de 10 mL de etanol 96° INPM aproximadamente a 15 °C. Continuou-se o processo de filtração do material residual, lavando a cera depositada na superfície do papel de filtro qualitativo. Em uma proveta, determinou-se o volume do extrato de própolis livre de cera, contido no kitassato. Depois, o material foi transferido para um frasco âmbar e guardado sob refrigeração à -15 °C (BARRETO *et al.*, 2020).

Com a ajuda de duas pinças metálicas, transferiu-se o papel de filtro contendo cera para um vidro de relógio. O vidro de relógio contendo o material foi colocado em uma capela por 30 minutos para a evaporação do excesso de solvente. Após os 30 minutos de evaporação, o vidro de relógio com o papel de filtro e cera foi levado para uma estufa a 105 °C por 120 minutos (BARRETO *et al.*, 2020).

Em seguida, com o auxílio de uma tenaz, retirou-se o material quente e transferiu-se para um dessecador, onde permaneceu por 30 minutos. Posteriormente, pesou-se o papel de filtro contendo cera e determinou-se o teor de cera na amostra de própolis através do cálculo da razão entre a massa retida no filtro e a massa da amostra utilizada no processo de extração.

3.4 PERDA POR DESSECAÇÃO

Inicialmente, com o auxílio de um grafite, identificou-se três cadinhos de alumínio para cada amostra a ser analisada. Em seguida, os cadinhos foram colocados em uma estufa a 105 °C por 60 minutos. Após isso, os cadinhos foram retirados com a ajuda de uma tenaz e colocados em um dessecador, onde permaneceram por 45 minutos até o resfriamento.

Em uma balança analítica, pesou-se aproximadamente 3 g de amostra de própolis bruta e geoprópolis em cada cadinho de alumínio previamente pesado e identificado. Feito isso, os cadinhos foram levados à estufa a 105 °C por 120 minutos. Posteriormente, utilizando uma tenaz, os cadinhos foram retirados da estufa e levados ao dessecador, onde permaneceram por 60 minutos. Depois, os cadinhos foram pesados e calculou-se a massa perdida (BARRETO *et al.*, 2020).

3.5 TEOR DE CINZAS

Três cadinhos de porcelana foram identificados para cada tipo de amostra de própolis e geoprópolis. Eles foram submetidos a uma limpeza prévia em mufla a 600 °C por 30 minutos. Em seguida, os cadinhos foram pesados, e aproximadamente 3 g de amostra bruta foram adicionados a cada um. As amostras foram então inseridas em uma mufla a 600 °C e mantidas por 5 horas. Após o tempo estipulado, os cadinhos foram removidos e transferidos para um dessecador (BARRETO *et al.*, 2020). Posteriormente, os cadinhos com as cinzas foram pesados para cálculo e determinação do teor de cinzas presente nas amostras de própolis bruta.

3.6 TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS

Para a determinação dos resíduos secos ou sólidos solúveis, colocou-se em uma estufa a 105 °C, durante 60 minutos, 3 cápsulas de porcelana previamente identificadas para cada amostra de extrato de própolis e geoprópolis livre de cera. Depois, transferiu-se para um dessecador por 60 minutos. Posteriormente, pesaram-se as cápsulas de porcelana em uma balança analítica. Utilizando uma pipeta graduada de 5 mL, adicionou-se a cada cápsula uma

alíquota de 5 mL do extrato de própolis livre de cera (FUNARI e FERRO, 2006; BARRETO *et al.*, 2020).

Colocou-se as cápsulas em estufa a 105 °C por 2 horas. Após a secagem, transferiu-se as cápsulas para um dessecador, onde permaneceram por 60 minutos. Pesou-se as cápsulas de porcelana contendo o resíduo em uma balança analítica. Calculou-se o teor de sólidos solúveis através da razão entre a massa de resíduo depositada na cápsula e a massa inicial de própolis bruta extraída, correspondente à alíquota de 5 mL (FUNARI e FERRO, 2006).

3.7 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Inicialmente, pesou-se 0,05 g de ácido gálico ($C_7H_6O_5$) em um béquer de 50 mL. O ácido gálico foi dissolvido em aproximadamente 25 mL de etanol absoluto (99,5%). Depois, o material foi levado a um ultrassom por 5 minutos. A solução obtida foi transferida para um balão volumétrico de 250 mL e completada até o menisco com etanol absoluto (99,5%). A solução foi homogeneizada, resultando em uma concentração final de 200 $\mu\text{g/mL}$ (BARRETO *et al.*, 2020).

Foram identificados tubos de ensaio de 20 mL numerados de 0 a 7. As seguintes etapas foram realizadas para a preparação dos tubos de ensaio (BARRETO *et al.*, 2020): Tubo 0 (Branco): Adicionou-se 8,4 mL de água destilada, 0,8 mL do reagente de Folin-Denis e 0,8 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 35%. Agitou-se o tubo por 2 minutos. Tubo 1: Adicionou-se 8,3 mL de água destilada, 0,1 mL da solução padrão de ácido gálico (200 $\mu\text{g/mL}$), 0,8 mL do reagente de Folin-Denis e 0,8 mL de Na_2CO_3 a 35%. Agitou-se o tubo após cada adição de reagente. Adotou-se o procedimento do tubo 1 para os demais tubos (tabela 1):

Tabela 1 – Procedimento para preparo de curva de calibração de fenóis totais.

Tubo	Volume de água destilada	Volume do padrão de ácido gálico 200 $\mu\text{g/mL}$	Reagente de Folin-Denis	Na_2CO_3 35%
1	8,3 mL	0,1 mL	0,8 mL	0,8 mL
2	8,2 mL	0,2 mL	0,8 mL	0,8 mL

3	8,1 mL	0,3 mL	0,8 mL	0,8 mL
4	8,0 mL	0,4 mL	0,8 mL	0,8 mL
5	7,9 mL	0,5 mL	0,8 mL	0,8 mL
6	7,8 mL	0,6 mL	0,8 mL	0,8 mL
7	7,7 mL	0,7 mL	0,8 mL	0,8 mL

Fonte: Autor, 2024.

Posteriormente, analisou-se, em um espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu 2600-i no comprimento de onda de 760 nm com uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm, as absorvâncias de cada ponto da curva de calibração. Construiu-se a curva de calibração a partir da relação entre a concentração dos pontos e suas respectivas absorvâncias. Fez-se uma triplicata para a curva de calibração construída (BARRETO *et al.*, 2020).

Para a quantificação de compostos fenólicos totais nos extratos de própolis e geoprópolis obtidos, pipetou-se 400 µL do extrato livre de cera utilizando uma micropipeta de 1000 µL (para amostras mais concentradas, utilizou-se alíquotas de 100 µL) . O volume foi transferido para um tubo de ensaio identificado contendo 8 mL de água destilada previamente adicionada. Em seguida, adicionou-se 0,8 mL do reagente de Folin-Denis e 0,8 mL de Na₂CO₃ a 35%. Agitou-se o tubo após cada adição de reagente. A absorvância da amostra foi medida sob as mesmas condições da curva de calibração (BARRETO *et al.*, 2020). O experimento foi realizado em triplicata para cada amostra analisada. Ademais, quantificou-se o teor de compostos fenólicos através da seguinte equação (BARRETO *et al.*, 2020):

$$\text{Compostos fenólicos em g de ácido gálico/100 g} = (\text{CF} \cdot \text{Vs}) / (\text{m} \cdot \text{Va}) \times 0,1 \quad (1)$$

Onde:

CF = quantidade de compostos fenólicos presente na alíquota em miligramas;

Vs = volume da solução estoque em mililitros;

Va = volume da alíquota em mililitros;

m = massa de extrato seco da amostra em gramas;

0,1 = equivale ao fator de conversão de g/kg para g/100 g.

Para a obtenção da concentração final (CF) de compostos fenólicos totais, utilizou-se a equação derivada da curva de calibração. As absorbâncias das amostras foram substituídas na variável "y", enquanto os compostos fenólicos totais são representados pela variável "x" em µg/mL. A concentração real dos compostos fenólicos no extrato, em mg/mL, é determinada pela seguinte equação:

$$C_1/1000 = (C_2 \cdot V_2)/V_1 \quad (2)$$

Onde:

C_1 = concentração real de compostos fenólicos em µg/mL;

V_1 = volume da alíquota de amostra (mL);

C_2 = fenóis totais obtidos por meio da curva de calibração em µg/mL;

V_2 = equivale ao volume final do experimento (10 mL) ;

1000 = equivale ao fator de conversão de µg para mg.

3.8 QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES TOTAIS

Inicialmente, pesou-se 2,5 g de cloreto de alumínio ($AlCl_3$) em um béquer de 50 mL. O material foi dissolvido em aproximadamente 25 mL de etanol absoluto 99,5%. A solução resultante foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL, e o volume foi ajustado até a marca do menisco com mais etanol absoluto 99,5%. Após a homogeneização, obteve-se uma solução de $AlCl_3$ a 5%.

Para a preparação da solução padrão de quercetina, pesou-se 0,02 g de quercetina ($C_{15}H_{10}O_7$) em um béquer de 25 mL. O material foi solubilizado em etanol absoluto 99,5% e transferido para um balão volumétrico de 100 mL. O volume foi ajustado até a marca do menisco com etanol absoluto 99,5%, resultando em uma solução padrão contendo 200 µg/mL de quercetina. Esta solução também foi homogeneizada.

Para a preparação das amostras, utilizaram-se tubos de ensaio de 20 mL numerados de 0 a 8. Em cada tubo, adicionou-se 1 mL da solução de $AlCl_3$ a 5% com o auxílio de uma micropipeta de 1000 µL. No tubo 0, que serviu como branco, adicionou-se 9 mL de etanol absoluto 99,5%, totalizando um volume final de 10 mL. O tubo foi agitado por 1 minuto e deixado em repouso por 30 minutos (BARRETO *et al.*, 2020).

O procedimento experimental foi realizado conforme a tabela 2, onde cada tubo recebeu uma combinação específica de solução de AlCl_3 e volumes variáveis da solução padrão de quercetina (BARRETO *et al.*, 2020).

Tabela 2: Procedimento para preparo de curva de calibração de flavonoides totais.

Tubo	Volume de etanol	Volume do padrão de quercetina 200 $\mu\text{g/mL}$	Volume de AlCl_3
1	8,9 mL	0,1 mL	1 mL
2	8,8 mL	0,2 mL	1 mL
3	8,7 mL	0,3 mL	1 mL
4	8,6 mL	0,4 mL	1 mL
5	8,5 mL	0,5 mL	1 mL
6	8,4 mL	0,6 mL	1 mL
7	8,3 mL	0,7 mL	1 mL
8	8,2 mL	0,8 mL	1 mL

Fonte: Autor, 2024.

As amostras preparadas foram analisadas em um espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu 2600-i, utilizando o comprimento de onda de 425 nm em uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm. Os valores de absorvância obtidos foram utilizados para construir a curva de calibração. Para garantir uma maior precisão, a curva de calibração foi feita em triplicata (BARRETO *et al.*, 2020).

Posteriormente, para determinação de flavonóides totais nos extratos de própolis e geoprópolis, pipetou-se 6 mL do extrato livre de cera utilizando uma pipeta graduada de 10 mL (para amostras mais concentradas, utilizou-se uma alíquota de 1 mL). O volume foi transferido para um tubo de ensaio identificado contendo 4 mL de etanol absoluto 99,5 % e 1 mL de AlCl_3 previamente adicionados. Agitou-se o tubo após cada adição de reagente. A absorvância da amostra foi medida sob as mesmas condições da curva de calibração (BARRETO *et al.*, 2020). O experimento foi realizado em triplicata. Ademais, quantificou-se o teor de compostos fenólicos através da seguinte equação (BARRETO *et al.*, 2020):

$$\text{flavonóides totais em g de quercetina/100g} = (\text{FL} \cdot \text{Vs}) / (\text{m} \cdot \text{Va}) \times 0,1 \quad (3)$$

Onde:

FL = quantidade de compostos flavônicos presente na alíquota em miligramas (utilizou-se a equação 2 para a determinação dessa variável);

Vs = volume da solução estoque (mL);

Va = volume da alíquota (mL);

m = massa de extrato seco da amostra em gramas;

0,1 = equivale ao fator de conversão de g/kg para g/100g.

3.9 ANÁLISE DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS POR CG-EM

Para determinação dos compostos orgânicos voláteis, utilizou-se uma seringa de microextração em fase sólida (SPME). Para a determinação dos compostos orgânicos voláteis nas amostras de própolis marrom e geoprópolis, aproximadamente 1,5 g de cada amostra bruta foi pesada e transferida para frascos de 40 mL. Em seguida, acoplou-se uma seringa de microextração em fase sólida (SPME) equipada com uma fibra adsorvente de polidimetilsiloxano (PDMS) de 100 µm de espessura. A fibra foi exposta à amostra por 60 minutos a uma temperatura de 30 °C, permitindo a adsorção dos COVs presentes.

Após a microextração, a fibra SPME foi removida dos frascos e inserida em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (CG-EM) modelo GCMS-QP2010 da Shimadzu, para análise dos compostos voláteis. Utilizou-se as seguintes condições cromatográficas: Modo de injeção *Splitless* (sem particionamento de amostra), injetor a 250 °C, a rampa de aquecimento partiu de 50 °C por 1 minuto, ademais, a uma taxa de aquecimento de 3 °C/min, o forno do cromatógrafo atinge uma temperatura de 250 °C, permanecendo por 1 minuto. O fluxo de gás hélio foi de 1 mL/min. A fase estacionária utilizada foi uma Rxi-5Sil-MS (30 m; 0,25 mm; 0,25 µm). O detector de Massa a 70 eV, com uma temperatura da fonte de íons a 250 °C. O tempo de análise total foi de 68,67 minutos. Os picos dos cromatogramas obtidos foram tratados de acordo com a biblioteca NIST14 e NIST14s.

3.10 ANÁLISE QUANTITATIVA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR CONSUMO DO RADICAL LIVRE 2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL

Inicialmente, para determinação da atividade antioxidante, preparou-se uma solução de DPPH• a 100 µg/mL, pesando-se 5 mg do composto e diluindo-o em um balão volumétrico de 50 mL com metanol grau HPLC. O balão foi vertido cinco vezes para garantir a homogeneização da solução. Em seguida, a solução-mãe de DPPH• (100 µg/mL) foi diluída para preparar soluções de diferentes concentrações: 75 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL e 1 µg/mL, todas em balões volumétricos de 10 mL, utilizando o mesmo solvente.

As absorbâncias das soluções preparadas foram medidas em um espectrofotômetro, a um comprimento de onda de 515 nm, utilizando-se uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm. O metanol grau HPLC foi usado como branco para a análise conforme metodologia de Brand-Williams *et al.*, *apud* SOUSA *et al.*, 2007. A partir desses dados, foi gerada uma curva de calibração, e determinou-se a equação da reta que melhor representa o gráfico, assim como o coeficiente de determinação (R^2).

Para o controle positivo durante o teste de atividade antioxidante, preparou-se uma solução de ácido gálico a 200 µg/mL. Foram separados 5 tubos de ensaio de 20 mL, identificados de acordo com cada amostra, e em cada um deles adicionou-se 2,7 mL da solução de DPPH• a 100 µg/mL. Em seguida, acrescentaram-se 0,3 mL da solução de ácido gálico a 200 µg/mL, e os tubos foram mantidos em repouso por 30 minutos. Após esse período, a absorbância foi medida novamente no comprimento de onda de 515 nm. O experimento foi realizado em triplicata para garantir a reprodutibilidade dos resultados.

A atividade antioxidante foi calculada em porcentagem por meio da seguinte equação (SOUSA *et al.*, 2007):

$$\%AA = [(ABS_{\text{controle}} - ABS_{\text{amostra}})/ABS_{\text{controle}}] \times 100 \quad (4)$$

Onde:

ABS_{controle} = Corresponde à absorbância da solução de DPPH• a 100 µg/mL;

ABS_{amostra} = Corresponde a absorbância da amostra pós 30 minutos de reação com a solução de DPPH•.

100 = Fator de correção percentual.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 AVALIAÇÃO ORGANOLÉPTICA DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS

A própolis marrom bruta de *A. mellifera* coletada apresentou uma coloração marrom e um aspecto físico pegajoso. Além disso, uma característica marcante é o seu forte odor balsâmico e amadeirado (figura 13).

Figura 13 – Fragmentos da amostra de própolis marrom de *A. mellifera*.



Fonte: Autor, 2024.

A amostra de geoprópolis de *M. scutellaris* apresentou coloração marrom, além de um aspecto físico seco e terroso. Seu odor tem características terrosas, balsâmicas e levemente frutadas (figura 14).

Figura 14 – Amostra de geoprópolis pulverizada.



Fonte: Autor, 2024.

O extrato de própolis marrom de *A. mellifera*, extraído utilizando um extrator Soxhlet (frasco de número 1, figura 15), apresentou uma coloração marrom clara e aromas semelhantes aos da amostra bruta. Em contrapartida, o extrato do frasco 2 (figura 15), obtido

por meio de extração com maceração e ultrassom, apresentou uma coloração âmbar e translúcida, além de aromas ainda mais acentuados em relação ao extrato do frasco 1.

Figura 15 – Extratos de própolis marrom de *A. mellifera*.



Fonte: Autor, 2024.

O extrato etanólico de geoprópolis de *M. scutellaris*, extraído via maceração e ultrassom (frasco de número 3, figura 16), apresentou uma coloração escura e opaca, com um aroma que mantém as mesmas notas da amostra bruta. Já o extrato obtido após extração utilizando Soxhlet (frasco de número 4, figura 16) apresentou uma coloração âmbar escura e translúcida, com aromas menos acentuados em comparação ao frasco 3 (figura 16).

Figura 16 – Extratos de geoprópolis marrom de *M. scutellaris*.



Fonte: Autor, 2024.

De acordo com o Anexo VII da Instrução Normativa Nº 3, de 19 de janeiro de 2001, o extrato de própolis e geoprópolis deve conter as seguintes características sensoriais:

aromas característicos balsâmico e resinoso. A coloração pode variar dependendo da origem, da concentração ou do tipo de extração, apresentando tons de âmbar, avermelhado e esverdeado (BRASIL, 2001b). Além disso, deve apresentar sabor que varia de suave a forte, amargo e picante. Outro aspecto é que a solução deve ser líquida, límpida e homogênea. Logo, os extratos obtidos encontram-se dentro dos parâmetros sensoriais recomendados pela legislação brasileira.

4.2 DETERMINAÇÃO DE MASSA MECÂNICA DOS EXTRATOS OBTIDOS

A tabela 3 apresenta a composição físico-química e a atividade antioxidante de própolis marrom e geoprópolis, extraídas por Soxhlet e por maceração.

Tabela 3 – Composição físico-química e atividade antioxidante da própolis marrom e geoprópolis por diferentes métodos de extração.

ANÁLISE	AMOSTRA			
	Própolis marrom		Geoprópolis	
	Soxhlet	Maceração	Soxhlet	Maceração
Massa mecânica	29,65 ± 0,47%	56,90 ± 3,37%	75,73 ± 0,21%	75,08 ± 0,06%
Teor de cera	22,44 ± 0,07%	31,20 ± 0,08%	0,30 ± 0,02%	0,42 ± 0,01%
Umidade	5,81 ± 0,32%		4,52 ± 0,20%	
Teor de cinzas	1,87 ± 0,06%		65,22 ± 0,76%	
Sólidos solúveis	35,37 ± 1,36%	4,21 ± 0,12%	16,17 ± 0,22%	11,79 ± 0,15%
Fenóis totais	2,02 ± 0,02 %	2,80 ± 0,05%	2,74 ± 0,09%	2,22 ± 0,08%
Flavonoides totais	0,011 ± 0,03%	0,046 ± 0,12%	0,039 ± 0,04%	1,33 ± 0,17%
Atividade antioxidante	31,94 ± 1,59%	73,81 ± 1,34%	75,82 ± 1,12 %	86,11 ± 1,44%

Fonte: Autor, 2024.

A própolis marrom bruta de *A. mellifera*, utilizada no processo de extração de Soxhlet, apresentou uma porcentagem média de massa mecânica de 29,65 ± 0,47%.

encontrando-se dentro dos limites estabelecidos pela regulamentação quanto à massa mecânica ou parte insolúvel em etanol.

Em comparação, a mesma amostra submetida ao processo de extração por maceração (figura 17) – O material retido no papel de filtro foi obtido por extração via Soxhlet, enquanto o material presente no Erlenmeyer, corresponde à mesma amostra extraída por maceração – apresentou um percentual de massa mecânica de $56,90 \pm 3,37\%$. Essa diferença de massa mecânica pode ser explicada porque, na extração por maceração, não há renovação do solvente, o que leva à saturação do solvente mais rapidamente. Já na extração por Soxhlet, de acordo com Castro e Garcia-Ayuso (1998), a amostra está em constante contato com solvente fresco, o que aumenta a eficiência da extração. Além disso, a temperatura do sistema permanece relativamente alta, pois o calor aplicado ao balão de destilação atinge, em certa medida, o ponto de ebulição do solvente, melhorando a solubilidade dos compostos a serem extraídos.

Figura 17 – Resíduo insolúvel da própolis marrom de *A. mellifera*.



Fonte: Autor, 2024.

As amostras de geoprópolis de *M. scutellaris*, utilizadas nos processos de extração por Soxhlet e maceração assistido por ultrassom, apresentaram os seguintes teores de massa mecânica, respectivamente: $75,73 \pm 0,21\%$ e $75,08 \pm 0,06\%$. Esse elevado teor pode ser explicado pela composição da geoprópolis, que é uma mistura de resinas, ceras, vegetais e

terra, materiais que são insolúveis. Segundo Souza *et al.* (2013), dependendo da flora do local onde a amostra foi coletada, há uma variação significativa em sua composição física e química.

As amostras de própolis bruta marrom apresentaram teores de cera de $22,44 \pm 0,07\%$ na extração por Soxhlet e $31,20 \pm 1,12\%$ na extração por maceração. Em comparação, as amostras de geoprópolis de *Melipona scutellaris* mostraram um teor de cera de $0,30 \pm 0,02\%$ utilizando o método Soxhlet, enquanto o extrato obtido por maceração teve um teor de cera de $0,42 \pm 0,01\%$.

A própolis marrom bruta de *A.mellifera* analisada apresentou uma perda por dessecação de $5,81 \pm 0,32\%$, indicando que a amostra está em conformidade com os parâmetros estabelecidos pela legislação nacional. Por sua vez, a geoprópolis bruta de *M. scutellaris* revelou uma perda por dessecação de $4,52 \pm 0,20\%$, também atendendo aos requisitos normativos

A comparação entre os dois resultados mostra que a amostra de geoprópolis de *M. scutellaris* apresentou uma perda por dessecação ligeiramente menor do que a amostra de própolis marrom de *A. mellifera*. Esse resultado pode indicar uma menor quantidade de água na geoprópolis, o que pode estar relacionado às diferenças nas condições ambientais em que essas abelhas vivem, nas características específicas das resinas vegetais utilizadas, ou mesmo nas técnicas de coleta e preparo das amostras (MARCUCCI, 1995).

A amostra de própolis marrom bruta apresentou um teor de cinzas de $1,87 \pm 0,06\%$, enquanto a amostra de geoprópolis apresentou um teor significativamente maior, de $65,22 \pm 0,76\%$. A própolis marrom bruta analisada está dentro dos padrões estabelecidos.

O teor de cinzas é um indicativo da quantidade de material inorgânico presente na amostra após a incineração (COSMO e GALERIANI, 2017). A própolis marrom de *A. mellifera* é composta majoritariamente por resinas, ceras e compostos orgânicos (WOISKY, 1996), o que resulta um baixo teor de cinzas.

Por outro lado, a geoprópolis de *M. scutellaris* contém uma composição mais complexa, frequentemente incluindo uma quantidade significativa de solo, areia e outros minerais (KERR, 1987 *apud* DUTRA *et al.*, 2008), o que justifica o teor de cinzas muito mais elevado. A presença desses materiais inorgânicos na geoprópolis pode ser atribuída ao ambiente em que as abelhas meliponas constroem seus ninhos, muitas vezes em contato direto com o solo.

O extrato de própolis marrom analisado apresenta um teor de sólidos solúveis de 35,43 1,36% (m/m). Portanto, o extrato de própolis marrom por Soxhlet está em conformidade com os requisitos estabelecidos pela norma, demonstrando que o processo de extração utilizado atende aos padrões regulamentares.

No entanto, ao comparar com as outras amostras, observa-se uma variação significativa nos teores de sólidos solúveis. O extrato de própolis marrom obtido por maceração apresentou um teor de $4,21 \pm 0,12\%$ (m/m), enquanto o extrato de geoprópolis por Soxhlet mostrou $16,17 \pm 0,22\%$ (m/m) e o extrato de geoprópolis por maceração teve $11,79 \pm 0,15\%$ (m/m).

Essas diferenças nos resultados podem ser atribuídas a vários fatores. O método de extração desempenha um papel crucial na eficiência da extração dos compostos solúveis. O Soxhlet, sendo um método contínuo e eficaz, geralmente resulta em maiores teores de sólidos solúveis devido à repetida lixiviação com solvente quente (WOISKY, 1996). Em contraste, a maceração, que é um processo sem renovação de solvente, pode não extrair todos os compostos solúveis da mesma forma, refletindo-se em teores mais baixos.

A determinação de fenóis totais através do método espectrofotométrico utilizando o reagente de Folin-Denis, possui 7 pontos na curva de calibração que varia a concentração entre 2 $\mu\text{g/mL}$ e 14 $\mu\text{g/mL}$ com os seus respectivos valores de absorbância (tabela 4).

Tabela 4 – Absorbância do padrão de ácido gálico em função da concentração.

Tubo	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbâncias			Média e Desvio padrão (ABS)
		ABS 1	ABS 2	ABS 3	
1	2	0,220	0,203	0,211	$0,2113 \pm 0,0085$
2	4	0,405	0,390	0,402	$0,3990 \pm 0,0079$
3	6	0,581	0,577	0,578	$0,5780 \pm 0,0020$
4	8	0,729	0,673	0,695	$0,6990 \pm 0,0282$
5	10	0,906	0,880	0,884	$0,8900 \pm 0,0140$
6	12	1,091	1,048	1,052	$1,0630 \pm 0,0237$

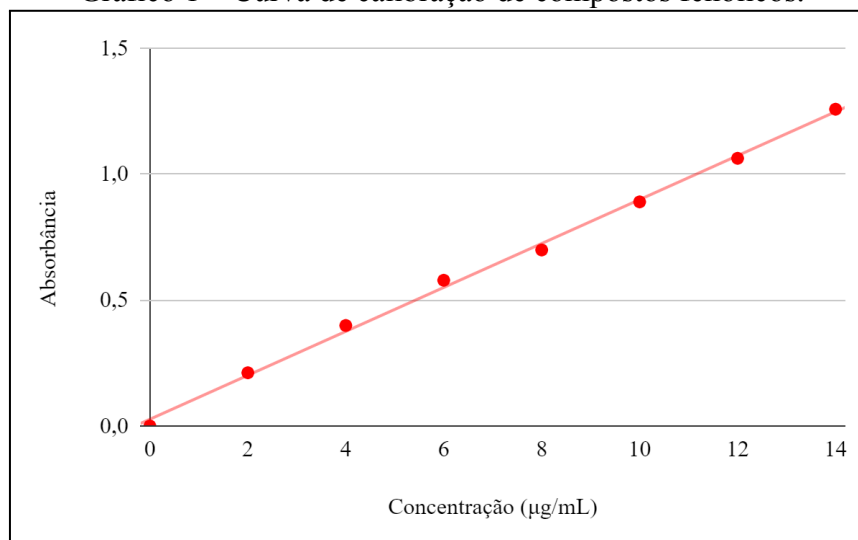
7	14	1,227	1,298	1,249	1,2580 ± 0,0363
---	----	-------	-------	-------	-----------------

Fonte: Autor, 2024.

Com base na tabela 11, foi elaborada a curva de calibração para os fenóis totais de ácido gálico (gráfico 1). O gráfico 1 ilustra a relação entre a concentração real dos compostos fenólicos e sua absorbância. O coeficiente de determinação (R^2) atingiu o valor de 0,997, indicando que os resultados demonstram uma alta linearidade na curva. A equação matemática, obtida pelo método dos mínimos múltiplos quadrados, é expressa por:

$$8,72 \cdot 10^{-2}x + 0,0266 = y. \quad (5)$$

Gráfico 1 – Curva de calibração de compostos fenólicos.



Fonte: Autor, 2024.

Os resultados obtidos mostram uma diferença notável entre os teores de compostos fenólicos das amostras analisadas. Para a própolis marrom, a extração por Soxhlet revelou um teor de $2,02 \pm 0,02\%$ (m/m), enquanto a maceração resultou em um teor mais alto de $2,80 \pm 0,05\%$ (m/m). No caso da geoprópolis, o teor foi de $2,74 \pm 0,09\%$ (m/m) com Soxhlet e $2,22 \pm 0,08\%$ (m/m) com maceração.

Esses resultados indicam que a eficiência dos métodos de extração pode variar significativamente dependendo da amostra, polaridade do solvente e da natureza dos compostos fenólicos presentes. Para a própolis marrom, a maceração mostrou-se mais eficaz, enquanto para a geoprópolis, o Soxhlet apresentou melhores resultados. A escolha do método

pode impactar significativamente os resultados e a qualidade da extração dos compostos fenólicos presentes no extrato etanólico.

Comparando com os resultados obtidos com os parâmetros exigidos pela legislação, tanto a própolis marrom quanto a geoprópolis não atendem a esse requisito, pois os teores encontrados estão abaixo do limite estipulado.

Esses resultados sugerem que, embora as amostras estejam em conformidade com os requisitos para extratos, elas não atendem ao padrão mais rigoroso exigido para a própolis bruta.

A curva de calibração foi construída com 8 pontos, cobrindo concentrações que variam de 2 µg/mL a 16 µg/mL, cujas absorvâncias estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Absorvância do padrão de quercetina em função da concentração.

Tubo	Concentração (µg/mL)	Absorvâncias			Média e Desvio padrão (ABS)
		ABS 1	ABS 2	ABS 3	
1	2	0,115	0,120	0,117	0,1173 ± 0,0025
2	4	0,217	0,232	0,222	0,2236 ± 0,0076
3	6	0,388	0,366	0,373	0,3756 ± 0,0112
4	8	0,440	0,457	0,449	0,4486 ± 0,0085
5	10	0,563	0,599	0,571	0,5776 ± 0,0018
6	12	0,625	0,761	0,690	0,6920 ± 0,0680
7	14	0,875	0,815	0,834	0,8413 ± 0,0306
8	16	0,971	0,957	0,962	0,9633 ± 0,0070

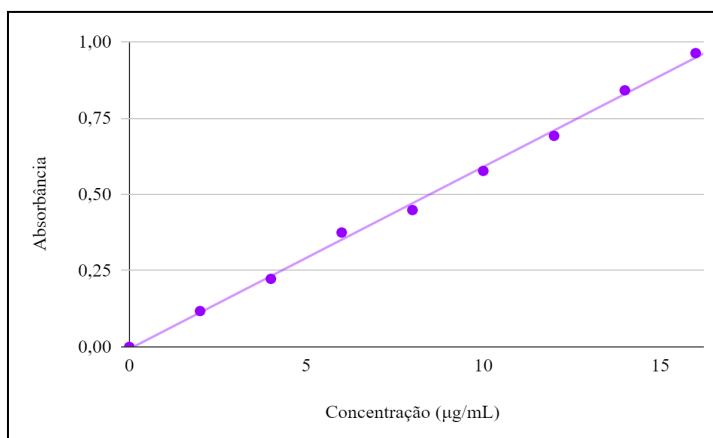
Fonte: Autor, 2024.

Com base na Tabela 13, foi elaborada a curva de calibração para os flavonóides totais utilizando o padrão de quercetina (gráfico 2). O gráfico 2 ilustra a relação entre a concentração real dos flavonóides e sua absorvância. O coeficiente de determinação (R^2)

alcançou o valor de 0,996, indicando uma alta linearidade na curva. A equação matemática, obtida pelo método dos mínimos quadrados, é expressa por:

$$5,97 \cdot 10^{-2}x + 0,00678 = y. \quad (6)$$

Gráfico 2 – Curva de calibração de flavonóides totais.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a própolis marrom, o teor de flavonóides totais obtido por Soxhlet foi de $0,011 \pm 0,03\%$, enquanto por maceração alcançou $0,046 \pm 0,12\%$. Já para a geoprópolis, o teor foi de $0,039 \pm 0,04\%$ pelo método de Soxhlet e $1,33 \pm 0,17\%$ por maceração. Esses dados indicam que, no caso da própolis marrom, o método de maceração resultou em uma extração mais eficiente de flavonóides em comparação ao Soxhlet. No entanto, para a geoprópolis, na extração com maceração mostrou uma concentração consideravelmente superior, sugerindo que fatores como a polaridade do solvente e a natureza dos compostos flavonóides presentes influenciam os resultados.

Analisando os resultados, observa-se que tanto a própolis marrom quanto a geoprópolis estão abaixo desse limite mínimo, independentemente do método de extração utilizado, o que indica não conformidade com o padrão estabelecido para a própolis.

enquanto as demais amostras (própolis marrom por Soxhlet e maceração, geoprópolis por Soxhlet) não atingem o valor estipulado.

Esses resultados sugerem que, embora o extrato de geoprópolis obtido por maceração esteja em conformidade com o requisito mínimo para extratos de própolis, todas as demais amostras analisadas estão aquém dos padrões mínimos exigidos para a própolis como matéria-prima.

A curva de calibração para o DPPH• foi construída com 7 pontos, cobrindo concentrações que variam de 1 µg/mL a 100 µg/mL. As absorvâncias correspondentes a essas concentrações estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 – Absorvância do padrão de DPPH• em função da concentração.

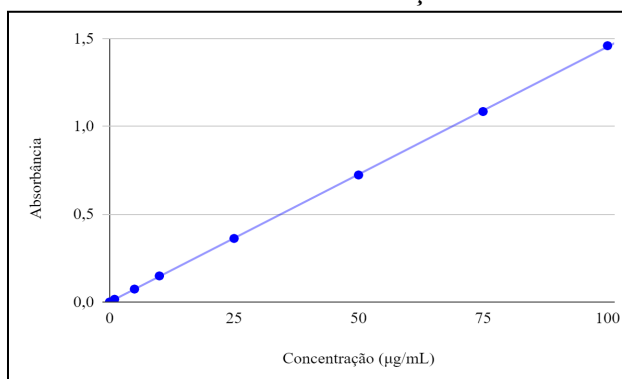
Tubo	Concentração (µg/mL)	Absorvâncias			Média e Desvio padrão (ABS)
		ABS 1	ABS 2	ABS 3	
1	1	0,015	0,014	0,018	0,0156 ± 0,0020
2	5	0,072	0,075	0,074	0,0736 ± 0,0015
3	10	0,148	0,151	0,147	0,1486 ± 0,0020
4	25	0,361	0,356	0,369	0,3620 ± 0,0065
5	50	0,722	0,717	0,732	0,7236 ± 0,0076
6	75	1,085	1,092	1,078	1,085 ± 0,0070
7	100	1,461	1,453	1,466	1,460 ± 0,0065

Fonte: Autor, 2024.

Equação da curva de calibração referente à análise de DPPH• com $R^2 = 0,999$:

$$1,45 \cdot 10^{-2}x + 0,00012 = y. \quad (7)$$

Gráfico 3 – Curva de calibração de DPPH•.



Fonte: Autor, 2024.

Para a geoprópolis, a atividade antioxidante medida foi de $86,12 \pm 1,44\%$ quando extraída por maceração, enquanto a extração por Soxhlet resultou em $75,82 \pm 1,12\%$. Apesar do teor de compostos fenólicos ser ligeiramente maior no extrato obtido por Soxhlet em comparação à maceração, a maceração foi mais eficiente em extrair compostos com maior capacidade antioxidante. Esse efeito pode estar relacionado ao teor de flavonóides totais, que foi significativamente maior no extrato por maceração do que por Soxhlet (KOWALSKI *et al.*, 2020).

De acordo com Santos e Rodrigues (2017), os flavonóides têm uma atividade antioxidante significativa porque conseguem se ligar a metais, formando complexos estáveis, e capturar radicais livres. Isso indica que os flavonóides extraídos em maior quantidade pelo método de maceração desempenham um papel importante na atividade antioxidante da geoprópolis.

Para a própolis marrom, a diferença entre os métodos de extração foi ainda mais acentuada. A atividade antioxidante do extrato obtido por maceração alcançou $73,81 \pm 1,34\%$, enquanto o método de Soxhlet atingiu apenas $31,94 \pm 1,59\%$. Esses dados estão em concordância com o teor mais elevado de compostos fenólicos — que também exibem atividade antioxidante — obtido pela maceração em comparação ao Soxhlet. Além disso, a quantidade de flavonóides totais foi significativamente maior no extrato obtido por maceração em relação ao Soxhlet, sugerindo que a maceração foi mais eficaz na extração de compostos antioxidantes ativos.

O ácido gálico, utilizado como controle, apresentou a maior atividade antioxidante entre todas as amostras, com $93,72 \pm 1,83\%$. Esse resultado era esperado, pois o ácido gálico é um composto fenólico, amplamente reconhecido por sua alta capacidade antioxidante (BARBOSA, 2010).

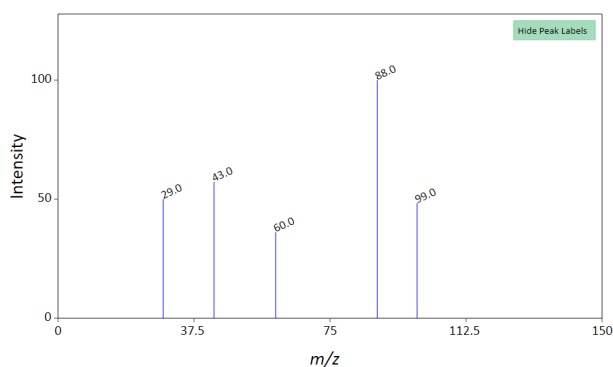
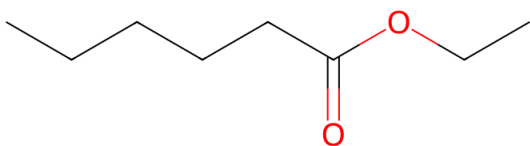
4.10 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS ORGÂNICO VOLÁTEIS POR CG-EM

A análise por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) da amostra de própolis marrom de *A. mellifera* observou-se uma ampla diversidade de compostos químicos, pertencentes a diferentes classes e em variadas concentrações, destacando a complexidade e o potencial funcional dessa substância natural. No total, foram

identificados 66 compostos, abrangendo diversas classes químicas, como ésteres, terpenos, aldeídos, cetonas, álcoois, entre outras (APÊNDICE A).

Entre os compostos detectados por Espectrometria de massas, alguns se destacam pela sua alta concentração, o que sugere sua importância no perfil da própolis marrom de *A. mellifera*. O octanoato de etila (figura 18), identificado como o pico de número 8 (APÊNDICE A) no tempo de retenção de 11,345 minutos, é o segundo composto mais abundante em percentual de concentração relativa em área, com 12,21% e 98% de similaridade de fragmentação m/z com as bibliotecas NIST14 e NIST14s.

Figura 18 – Hexanoato de etila e sua fragmentação m/z .

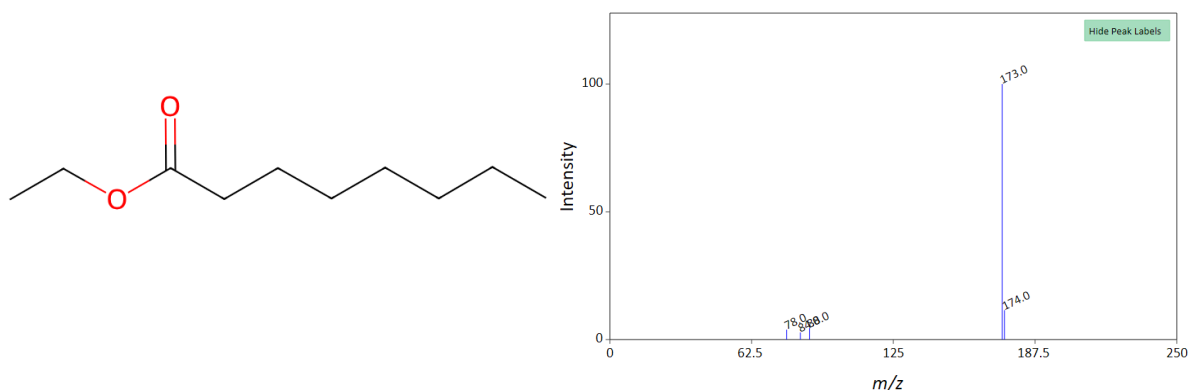


Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com Fahlbusch *et al.* (2012), trata-se de um líquido incolor com um aroma forte e frutado, semelhante ao de abacaxi. Ele é encontrado em diversas frutas e, em pequenas quantidades, é utilizado para conferir notas florais e frutadas em perfumes, sendo empregado em maiores quantidades em formulações de aromas de frutas.

O octanoato de etila (Figura 19) foi detectado com um tempo de retenção de 20,278 minutos (pico 23, APÊNDICE A), é o composto mais abundante presente dentre os compostos orgânicos voláteis da própolis marrom de *A. mellifera*, apresentando 18,16% de concentração relativa em área e 96% de similaridade de fragmentação m/z com as bibliotecas NIST14 e NIST14s. Este composto, segundo Fahlbusch (2012), é um líquido com odor frutado-floral, amplamente encontrado em frutas e bebidas alcoólicas, e frequentemente utilizado na formulação de sabores frutados. Esse ácido graxo pode ser um dos principais responsáveis pelo odor marcante característico da própolis marrom de *Apis mellifera*.

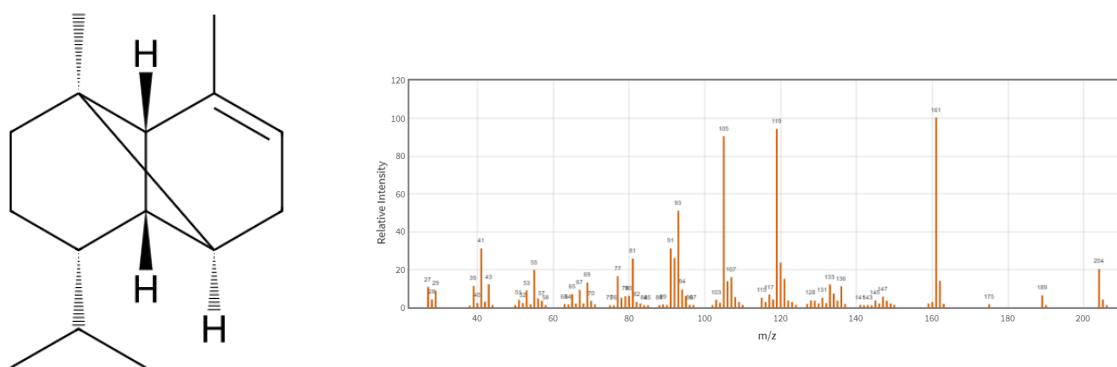
Figura 19 – Octanoato de etila e sua fragmentação m/z.



Fonte: Elaborado pelo autor.

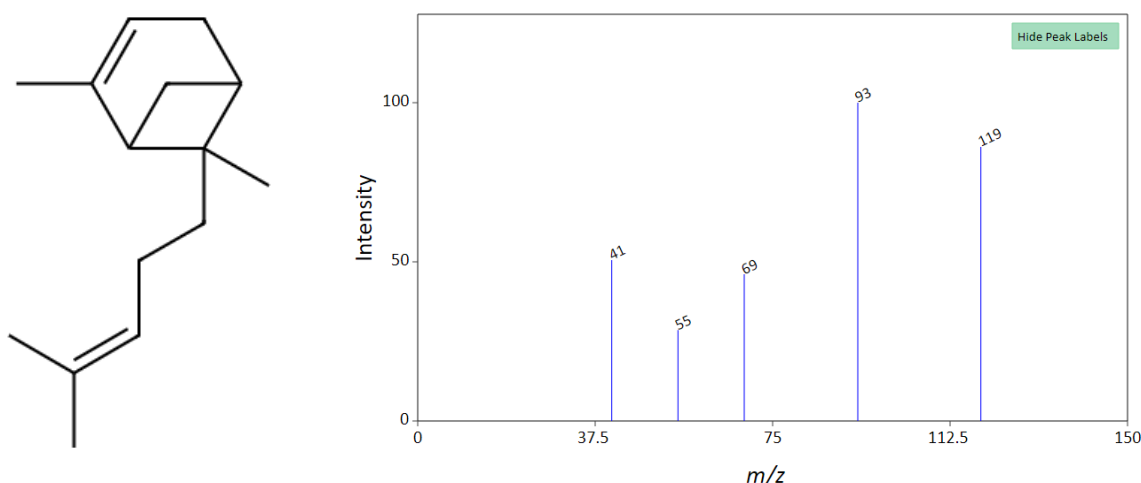
O copaeno (Figura 20) foi detectado com um tempo de retenção de 28,295 minutos (pico 42, APÊNDICE A), sendo o quarto composto mais abundante entre os compostos voláteis na própolis marrom de *A. mellifera*, apresentando 9,16% de concentração relativa em área e 95% de similaridade de fragmentação m/z com as bibliotecas NIST14 e NIST14s. Para Nishida (2000), este sesquiterpeno, com uma estrutura tricíclica, é conhecido por atuar como atrativo natural para os machos de *Ceratitis capitata* (mosca do mediterrâneo) e é encontrado em uma ampla diversidade de plantas, incluindo hospedeiros importantes como laranja, goiaba, mamão e manga. Além disso, estudos indicam que essa molécula é o terpênico natural com excelente atividade biológica (CHEN *et al.*, 2024).

Figura 20 – Copaeno e sua fragmentação m/z.



área de metabolômica e fitoquímica, sendo identificado em várias espécies vegetais, como *Humulus lupulus* e *Pectis brevipedunculata*, além de ser encontrado em diversos tipos de óleos essenciais (PUBCHEM, 2005a). A identificação do trans- α -bergamoteno, com tempo de retenção de 30,721 minutos e 11,70% de concentração em área, revela sua relevância quantitativa na amostra analisada.

Figura 21 – Trans- α -bergamoteno e sua fragmentação m/z.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os monoterpenos e sesquiterpenos são compostos voláteis que desempenham um papel fundamental no aroma de produtos naturais, como frutas cítricas e ervas aromáticas (FELIPE e BICAS, 2016). Identificou-se na amostra de própolis de *A. mellifera*, por meio da CG-EM, terpenos como o cariofileno (pico 48, APÊNDICE A), (-)- β -bourboneno (pico 43, APÊNDICE A), o humuleno (pico 53, APÊNDICE A), germacreno D (pico 56, APÊNDICE A) e (E)- β -fameseno (pico 57, APÊNDICE A), todos importantes por suas propriedades aromáticas e potenciais efeitos benéficos. Segundo Felipe e Bicas (2016), Esses compostos são frequentemente encontrados em óleos essenciais, utilizados em diversas indústrias, desde perfumes até medicina popular, devido às suas propriedades terapêuticas.

A própolis marrom de *A. mellifera* revela uma composição rica em compostos voláteis das classes dos aldeídos e terpenóides que conferem características sensoriais e potenciais benefícios terapêuticos. Entre esses compostos, destacam-se o linalol – pico 15, com 80 % de similaridade com a biblioteca – que, mesmo em uma contração relativamente baixa (0,26%), dá uma característica ao seu aroma floral e fresco, proporciona notas agradáveis e é conhecido por suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias,

aumentando o valor terapêutico da própolis (FAHLBUSCH *et al.*, 2012). Conforme dito por Felipe e Bicas (2016), o anetol (pico 33, 96% de similaridade com as bibliotecas), com seu aroma doce e anisado, enriquece o perfil olfativo e possui propriedades antioxidantes que podem contribuir para suas qualidades benéficas.

O hexanal, com seu cheiro verde e frutado, adiciona frescor à própolis, enquanto o nonanal oferece notas gordurosas e florais, frequentemente associadas a aromas de rosa (FAHLBUSCH *et al.*, 2012). O decanal, com um odor forte e cítrico, proporciona uma sensação de frescor, aumentando a atratividade. Por fim, o benzaldeído, com seu aroma de amêndoas amargas, não apenas complementa o perfil sensorial, mas também contribui para as propriedades antimicrobianas da própolis.

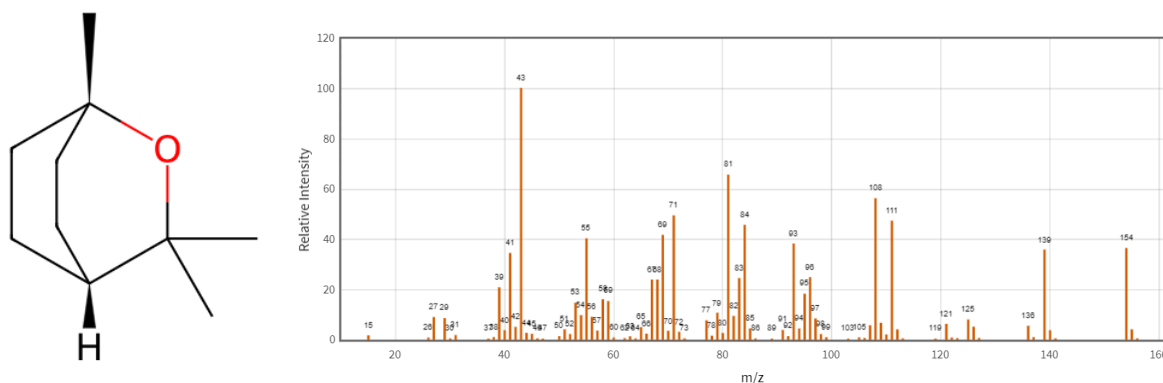
Conforme o APÊNDICE B, toda essa gama de compostos voláteis interage para criar um aroma complexo e envolvente, que não apenas eleva a qualidade sensorial da própolis, mas também enfatiza seu potencial terapêutico. A diversidade e riqueza desse perfil aromático sugerem uma sinergia entre os componentes, possivelmente amplificando os benefícios à saúde atribuídos à própolis marrom. Essa interação ressalta a importância dos compostos presentes, destacando a própolis como um recurso valioso na medicina natural.

A análise por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas da amostra de geoprópolis de *M. scutellaris* revelou a presença de 48 compostos orgânicos voláteis, refletindo a complexidade química dessa substância natural (APÊNDICE C). A maior parte dos compostos identificados pertencem às classes dos terpenos e terpenóides, destacando o perfil volátil característico da geoprópolis. Entre eles, dois compostos se apresentaram em concentrações elevadas (picos 31 e 33, APÊNDICE D), enquanto os demais foram detectados em quantidades menores, em níveis de traços ou notas, evidenciando a variabilidade da composição química e o potencial funcional desta amostra (APÊNDICE E).

A análise da geoprópolis de *M. scutellaris* revelou a presença de compostos como limoneno (0,29%), eucalipto (0,39%), α -pineno (0,54%) e o-cimeno (0,22%), todos em baixa concentração, mas com importância significativa para as propriedades da amostra.

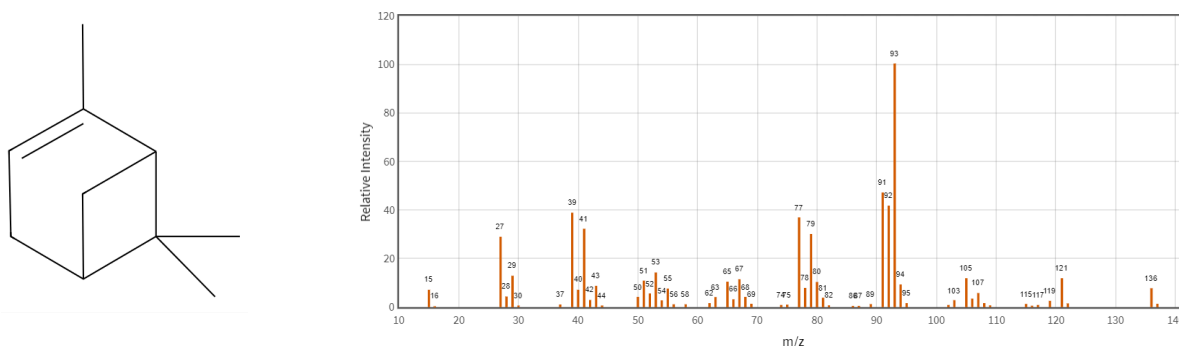
O eucaliptol (cineol) (figura 22), presente em óleos essenciais de diversas plantas, é conhecido por suas atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias. Sua ocorrência em geoprópolis, mesmo em pequenas quantidades, adiciona um valor terapêutico à amostra. Estudos apontam que o eucaliptol pode constituir até 85% dos óleos de eucalipto e 70% dos óleos de louro (FAHLBUSCH *et al.*, 2012), demonstrando sua relevância em compostos apícolas.

Figura 22 – Molécula de eucaliptol e sua fragmentação m/z.



Fonte: Elaborado pelo autor.

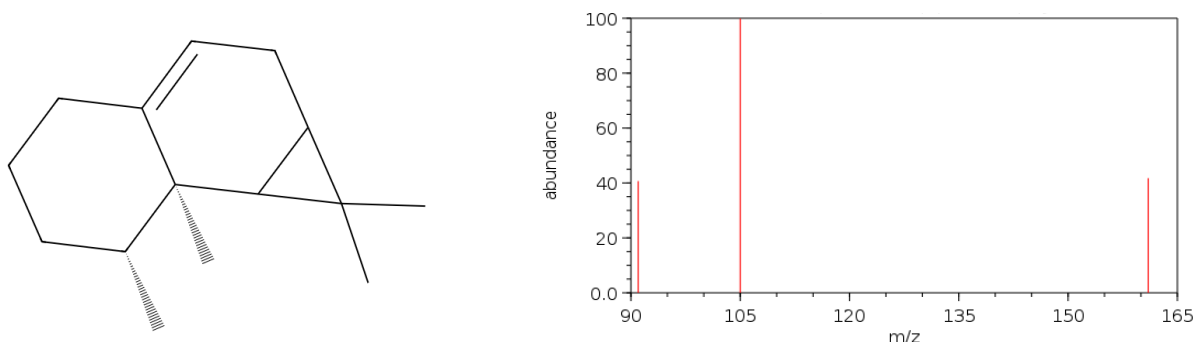
O α -Pino (figura 23), um dos principais compostos voláteis das coníferas como o pinheiro, também desempenha um papel significativo na defesa das abelhas contra microrganismos patogênicos. Ele é amplamente encontrado em espécies de *Pinus*, ao lado de outros monoterpenos como o car-3-eno e o mirceno (FELIPE e BICAS, 2016). Sua presença na geoprópolis reforça a complexidade química e os possíveis benefícios terapêuticos.

Figura 23 – Molécula de α -Pino e sua fragmentação m/z.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A análise dos compostos orgânicos voláteis também destacou a alta concentração de aristoleno (figura 24), que alcançou 60,78% em área, com um tempo de retenção de 28,578 minutos, sendo o composto dominante da amostra. O aristoleno é um sesquiterpeno com propriedades bioativas ainda pouco exploradas em geoprópolis, mas sua alta concentração sugere um papel central nas atividades biológicas da amostra. Esse composto já foi identificado em espécies como *Calypogeia muelleriana* e *Bazzania tridens*, entre outros organismos onde também se observa sua presença (PUBCHEM, 2005b).

Figura 24 – Molécula de aristoleno e sua fragmentação m/z.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A identificação de um composto com fragmentação similar ao aristoleno, o 1H-Ciclopropa[a]naftaleno,1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahidro-1,1,7,7a-tetrametil-,[1aR-(1 α ,7 α ,7 α ,7b α)], que apresentou uma concentração de 22,64%, com um tempo de retenção de 29,089 minutos. Esse composto é um isômero do aristoleno e sua presença em quantidade significativa sugere que ambos compartilham origens biossintéticas semelhantes e podem ter impactos biológicos correlatos, ampliando as possíveis aplicações terapêuticas da geoprópolis.

5 CONCLUSÃO

A caracterização físico-química da própolis e geoprópolis, coletados nos municípios de Pilar e Maceió, em Alagoas, revelou a complexidade e a diversidade de compostos bioativos presentes nesses produtos naturais. Os resultados obtidos demonstraram que tanto a própolis marrom de *A. mellifera* quanto a geoprópolis de *M. scutellaris* possuem significativos potenciais terapêuticos, embora apresentem algumas limitações em relação aos padrões estabelecidos.

A análise dos compostos fenólicos e flavonóides mostraram que, embora as amostras não tenham atingido os teores mínimos exigidos pela legislação, para a classificação como própolis bruta, os extratos ainda apresentaram concentrações relevantes que podem contribuir para a atividade antioxidante e outras propriedades benéficas à saúde. A geoprópolis, em particular, destacou-se por sua composição rica em terpenos e outros compostos orgânicos voláteis, que conferem características sensoriais e potenciais efeitos terapêuticos.

Entretanto, é importante ressaltar que as amostras analisadas, embora apresentem potenciais significativos, não atendem a todos os critérios de qualidade estabelecidos pela

legislação. Isso evidencia a necessidade de otimizar os métodos de extração e padronizar os processos para maximizar os benefícios terapêuticos desses produtos. Outro fator relevante pode estar relacionado às características intrínsecas das amostras, como a região em que as abelhas coletam a matéria-prima para a produção de própolis e geoprópolis. A continuidade de pesquisas nessa área é essencial para aprofundar o entendimento das propriedades bioativas desses produtos e promover práticas sustentáveis na apicultura.

Em suma, tanto a própolis quanto a geoprópolis apresentaram grandes potenciais terapêuticos para a medicina alternativa, sendo fundamental que sejam realizadas mais análises e melhorias nas técnicas de extração e processamento para que esses produtos possam ser plenamente aproveitados em contextos terapêuticos e de saúde pública.

REFERÊNCIAS

- BANKOVA, V. **Chemical diversity of propolis and the problem of standardization.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, n. 1–2, p. 114–117, 2005.
- BARBOSA, V. de F. **Caracterização do perfil da ação do ácido gálico e seus derivados sobre processos oxidativos in vitro e ex vivo.** 2010. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia Aplicada à Farmácia) — Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual "Julio Mesquita Filho", Araraquara, 2010.
- BARRETO, A. L. H.; LOPES, M. T. do R.; PEREIRA, F. de M.; SOUZA, B. de A. **Controle de Qualidade da Própolis.** Embrapa meio-norte. Agosto, 2020.
- BERLATO, Gladis. **Brasil busca norma global para ampliar exportação de própolis.** *Trends CE*, 23 jan. 2023. Disponível em: <https://www.trendsce.com.br/2023/01/23/brasil-busca-norma-global-para-ampliar-exportacao-de-propolis/>. Acesso em: 29 out. 2024.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.**, *LWT - Food Science and Technology* v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa SDA nº 03, de 19 jan. 2001. Anexo VI** - Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 jan. 2001a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa SDA nº 03, de 19 jan. 2001. Anexo VII** - Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 jan. 2001b.
- CHEN, S.; ZHENG, H.; YANG, S.; QI, Y.; LI, W.; KANG, S.; HU, H.; HUA, Q.; WU, Y.; LIU, Z. **Antimicrobial activity and mechanism of α -copaene against foodborne pathogenic bacteria and its application in beef soup.** *LWT*, v. 195, 1 mar. 2024, p. 115848. DOI: 10.1016/j.lwt.2024.115848.
- CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. **O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos.** *Quim. Nova*, Vol. 31, No. 3, 623-636, 2008.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos.** 7ª ed. 1997.
- CUNHA, I. B. S.; SAWAYA, A. C. H. F.; CAETANO, F. M.; SHIMIZU, M. T.; MARCUCCI, M. C.; DREZZA, F. T.; POVIA, G. S.; CARVALHO, P. de O. **Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 15, n. 6, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532004000600026>.

DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PARK, Y. K. **Brazilian red propolis - Chemical composition and botanical origin**. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, v. 5, n. 4, p. 435–441, 2008.

DE-MELO, A. A. M.; MATSUDA, A. H.; FREITAS, A. S. de; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURIAN, L. B.. **Capacidade antioxidante da própolis**. Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 44, n. 3, p. 341–348, 2014.

DUTRA, R. P. **Características físico-químicas do geoprópolis de Melipona fasciculata Smith (Tiúba) produzido no estado do Maranhão**. São Luís - MA, 2006. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Maranhão, 2006.

DUTRA, R. P.; NOGUEIRA, A. M. C.; MARQUES, R. R. de O.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. S. **Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de Melipona fasciculata Smith da Baixada maranhense, Brasil**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 4, p. 595-603, dez. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000400010>.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Química e sociedade. **Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais**. Quím. Nova Esc., São Paulo-SP, Brasil, 2016.

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

GHISALBERTI, E. L. **Propolis: A Review**. Bee World, v. 60, n. 2, p. 59–84, 1979.

HEIM, E., K.; T., R., A., B., J., D.; **Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships**. Journal of Nutritional Biochemistry 13, 572-584, 2002.

HODNETT, R. **Western Honey Bee (Apis mellifera)** - Guelph, Ontario. 2018. Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Western_Honey_Bee_%28Apis_mellifera%29_-_Guelph,_Ontario_02.jpg. Acesso em: 08 set. 2024.

FAHLBUSCH, K.G.; HAMMERSCHMIDT, F.-J.; PANTEN, J.; PICKENHAGEN, W.; SCHATKOWSKI, D.; BAUER, K.; GARBE, D.; SURBURG, H.. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, ed. **Flavors and Fragrances**. 2012: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. doi:10.1002/14356007.a11_141.

KOWALSKI, L., Dias da Silva, A. ., Rodrigues Pagno, A. ., & Piana, M. . (2020). Atividade Antimicrobiana de Flavonoides: uma Revisão de Literatura. Revista Interdisciplinar Em Ciências Da Saúde E Biológicas, 4(1), 51-65. <https://doi.org/10.31512/ricsb.v4i1.119>

KUSTIAWAN, P. M.; SIREGAR, K. A. AI K.; SYAIFIE, P. H.; MUTTAQIN, F. Z.; IBADILLAH, D.; JAUHAR, M. M.; DJAMAS, N.I; MARDLIYATI, E.; ROCHMAN, N. T. **Uncovering the anti-breast cancer activity potential of east Kalimantan propolis by in vitro and bioinformatics analysis**. Heliyon, [s.l.], v. 10, e33636, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33636>.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; GARCÍA-AYUSO, L. E. **Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future.** *Analytica Chimica Acta*, v. 369, n. 1-2, p. 1-10, 10 ago. 1998.

MABREY, T. J., MARKMAN, K. R., & THOMAS, M. B. **The Systematic Identification of Flavonoids.** (1970). doi:10.1007/978-3-642-88458-0

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

NISHIDA, R.; SHELLY, T. E.; WHITTIER, T. S.; KANESHIRO, K. Y. **Copaene, a potential rendezvous cue for the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*?** Laboratory of Chemical Ecology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan. Hawaiian Evolutionary Biology Program, University of Hawaii, Honolulu, Hawaii 96822, 1999.

OLIVEIRA, G. L. S. **Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 17, n. 1, p. 36-44, jan./mar. 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_165.

PUBCHEM. alpha-Bergamotene. 2005a. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/alpha-Bergamotene>. Acesso em: 27 set. 2024.

PUBCHEM. Aristolene. 2005b. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/530421>. Acesso em: 27 set. 2024.

PINHEIRO, C. G.; PINTO, M. V. de M.; BARONE, M. V.; SAMPAIO, A. R.; FORTUNY, E.; GOMES, O. P.; SILVA, V. F. da; SANTOS JÚNIOR, J. G. de A.; CORREA, J. A. **Análise da metodologia de aceleração cicatricial MAC® com uso da própolis e azul de toluidina na cicatrização de úlceras de membros inferiores.** *Jornal de Crescimento e Desenvolvimento Humano*, v. 34, n. 2, p. 305-314, 2024. DOI: 10.36311/jhgd.v34.15499.

PIRES, J. S.; TORRES, P. B.; SANTOS, D. Y.A.C. dos; CHOW, F. **Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas.** Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. Setembro, 2017.

RAMOS, J. M.; CARVALHO, N. C. de. **Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*.** *Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal, Garça/SP*, v. VI, n. 10, p. 1-15, ago. 2007. ISSN 1678-3867. Disponível em: https://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/h4KxXMNL19aDCab_2013-4-26-15-37-3.pdf.

RODRIGUES DE MELO, G.; LOURENÇO DA SILVA, L.; ALMEIDA, R. A. S. **Educação Ambiental na Conservação da Abelha *Melipona scutellaris* e Seus Benefícios na Biodiversidade.** Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA, Recife, 2022.

SANTIAGO, K. B.; CONTI, B. J.; CARDOSO, E. de O.; CONTE, F. L.; TASCA, K. I.; ROMAGNOLI, G. G.; GOLIM, M. de A.; CRUZ, M. T.; SFORCIN, J. M. **Efeitos anti-inflamatórios do própolis em células dendríticas tratadas com MAGE-1 e ácido retinóico e em células reguladoras Th1 e T.** Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, v. 29, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2022-0044>. Acesso em: 10 set. 2024.

SANTOS, D. S. dos; RODRIGUES, M. M. F. **Atividades farmacológicas dos flavonóides: um estudo de revisão.** Estudos Científicos, v. 7, n. 3, p. 29-35, 2017. DOI: 10.18468/estcien.2017v7n3.p29-35.

SHANG, H.; BHAGAVATHULA, A. S.; ALDHALEE, W. A.; RAHMANI, J.; KARAM, G.; RINALDI, G.; CLARK, C.; SALEHISAHLABADI, A.; YUAN, Q. **Effect of propolis supplementation on C-reactive protein levels and other inflammatory factors: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.** Journal of King Saud University - Science, v. 32, n. 2, p. 1694-1701, mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.01.003>. Acesso em: 08 set. 2024.

SILVA, C. C. F. da; SALATINO, A., MOTTA, L. B. da, NEGRI, G., SALATINO, M. L. F. (2019). **Chemical characterization, antioxidant and anti-HIV activities of a Brazilian propolis from Ceará state.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 29(3), 309-317. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.04.001>

SILVA, H.; FRANCISCO, R.; SARAIVA, A.; FRANCISCO, S.; CARRASCOSA, C.; RAPOSO, A. **The cardiovascular therapeutic potential of propolis — A comprehensive review.** Biology, v. 10, n. 1, p. 27, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biology10010027>. Acesso em: 08 set. 2024.

SILVA, L. R. da; MARTINS, L. do V.; CALOU, I. B. F.; DE DEUS, M. do S. M.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. **Flavonoids: Chemical composition, medical actions and toxicity.** Acta toxicológica argentina, v. 23, p. 36–43, 2015.

SOUSA, C. M. de M.; SILVA, H. R. e; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. da; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. de M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais.** Quimica Nova, v. 30, n. 2, p. 351–355, 2007.

SOUZA, S. A. de; CAMARA, C. A.; SILVA, E. M. S. da; SILVA, T. M. S. **Composition and antioxidant activity of geopropolis collected by Melipona subnitida (Jandaíra) bees.** International Journal of Analytical Chemistry, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2013/801383>. Acesso em: 10 set. 2024.

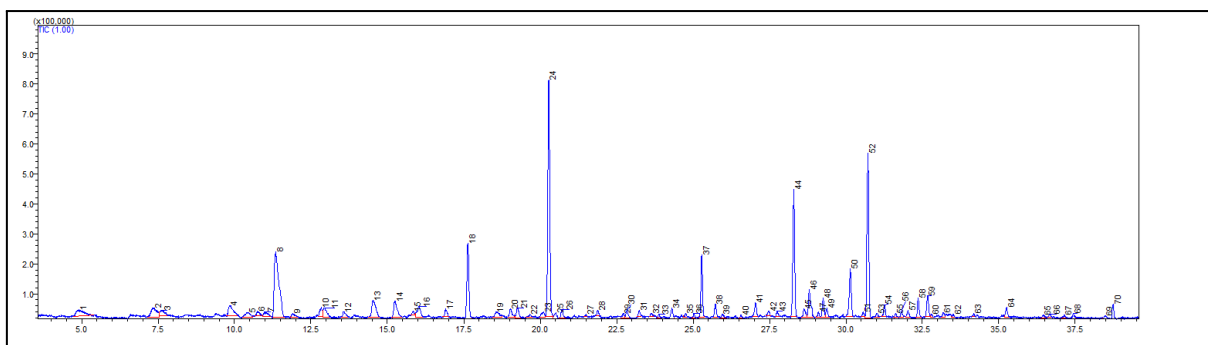
TEIXEIRA E. W., MESSAGE, D., MEIRA, R. M. S. A., SALATINO, A. **Indicadores da origem botânica da própolis: importância e perspectivas.** Parte de Tese de Doutorado em Entomologia, Departamento de Biologia Animal, UFV.

VOLPI, N. BERGONZINI, G. **Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC-electrospray mass spectrometry.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 42, n. 3, p. 354–361, 2006.

WOISKY, R. G. **Métodos de controle químico de amostras de própolis.** 1996. 74 f.
Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo,
São Paulo.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Cromatograma dos compostos orgânicos da própolis marrom de *A. mellifera*.



Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE B – Tabela de compostos orgânicos voláteis da própolis marrom identificados por CG-EM.

Pico	Composto	Tempo de retenção (minutos)	Concentração por área (%)	SI
1	Hexanal	4,910	1,87%	90%
2	Bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-trieno	7,351	2,18%	90%
3	2-Hexanol, 3,4-dimetil	7,617	0,01%	78%
4	Benzaldeído	9,839	1,94%	97%
5	Ácido hexanoico	10,434	0,01%	90%
6	5-Hepten-2-ona, 6-metil	10,745	0,54%	68%
7	Furan, 2-pentil	10,977	0,85%	89%
8	Ácido hexanoico, éster etílico	11,345	12,21%	98%
9	Ácido acético, éster hexílico	11,914	0,50%	91%
10	Álcool benzílico	12,841	0,97%	89%
11	Ácido hexanoico, éster propílico	12,929	1,32%	78%
12	2(3H)-Furanona, 5-etildihidro	13,576	0,71%	88%
13	2-Furanmetanol, 5-etilentetrahidro-.alpha.,.alpha.,5-trimetil-, cis	14,544	2,85%	89%

14	Óxido de linalol trans (furanoide)	15,253	2,19%	95%
15	Linalol	15,845	0,26%	80%
16	Nonanal	16,029	1,52%	94%
17	Ácido octanoico, éster metílico	16,911	0,66%	93%
18	2-Nonenal, (E)	18,557	0,88%	82%
19	Ácido benzóico, éster etílico	19,031	0,85%	91%
20	(3R,6S)-2,2,6-Trimetil-6-viniltetrahidro-2H-pirano-3-ol	19,262	0,97%	94%
21	4-Nonanona, 7-etil	19,669	0,33%	75%
22	1-(1,2,2,3-Tetrametilciclopentil)etanona, (1R-cis)	20,107	0,55%	80%
23	Ácido octanoico, éster etílico	20,278	18,16%	96%
24	Dodecano	20,515	0,69%	90%
25	Decanal	20,706	0,70%	94%
26	Ácido nonanoico, éster metílico	21,500	0,10%	78%
27	n-Octanoico, éster isopropílico	21,886	0,35%	88%
28	Hexanoato de isopentila	22,712	0,33%	84%
29	2(3H)-Furanona, 5-butildihidro	22,835	0,63%	86%
30	2-Decenal, (Z)	23,241	0,41%	90%
31	2-Propenal, 3-fenil	23,640	0,21%	89%
32	Undecano, 3,8-dimetil	23,884	0,21%	88%
33	Anetol	24,306	0,83%	96%
34	Ácido nonanoico, éster etílico	24,768	0,22%	86%
35	Dodecano	25,021	0,30%	91%
36	2,4-Decadienal, (E,E)	25,733	0,95%	95%
37	Tetradecano, 1-iodo	25,951	0,38%	82%

38	3-Nonen-2-ona	26,571	0,17%	78%
39	.alpha.-Cubebeno	27,044	1,11%	93%
40	2(3H)-Furanona, 5-pentildihidro	27,480	0,33%	94%
41	2-Undecenal	27,759	0,34%	95%
42	Copaeno	28,295	9,16%	95%
43	(-).beta.-Bourboneno	28,632	0,76%	94%
44	(1S,5S)-2-Metil-5-((R)-6-metilhept-5-en-2-il)bicyclo[3.1.0]hex-2-eno	28,803	2,70%	91%
45	Ácido decanoico, éster etílico	29,102	0,35%	93%
46	Metileugenol	29,257	1,34%	96%
47	Pentadecano	29,378	0,59%	95%
48	Cariofileno	30,145	3,77%	95%
49	.beta.-Copaeno	30,560	0,27%	90%
50	trans-.alpha.-Bergamoteno	30,721	11,70%	95%
51	Cicloexeno,3-(1,5-dimetil-4-hexenil)-6-metileno-, [S-(R*,S*)]-	31,014	0,29%	90%
52	5,9-Undecadien-2-ona, 6,10-dimetil	31,261	0,77%	88%
53	Humuleno	31,626	0,27%	90%
54	Alloaromadendreno	31,810	0,42%	93%
55	Ácido 3-fenilpropenoico, éster etílico, (E)	32,033	0,48%	94%
56	Germacreno D	32,670	1,54%	91%
57	(E).beta.-Fameseno	32,800	0,21%	86%
58	Benzeno, 1,2-dimetoxi-4-propenil, (Z)	33,181	0,39%	86%
59	Tetradecano	33,513	0,14%	87%
60	Naftaleno,1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1S-cis)	34,177	0,16%	80%

61	Benzeno, 1,2,3-trimetoxi-5-(2-propenil)	35,255	0,78%	93%
62	1H-Cicloprop[e]azuleno-7-ol, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1ar-(1a.alpha.,4a.alpha.,7.beta.,7a.beta.,7b.alpha.)]-	36,461	0,22%	82%
63	Óxido de cariofileno	36,664	0,21%	83%
64	Ácido octadecanoico, éster etílico	37,137	0,18%	83%
65	Hexadecano	37,440	0,41%	92%
66	Ácido hidracrílico, monoanidrido com ácido 1-butano-borônico, éster cíclico	38,482	0,24%	72%

Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE C – Tabela de compostos orgânicos voláteis de geoprópolis identificados por CG-EM.

Pico	Composto	Tempo de retenção (minutos)	Concentração por área (%)	SI
1	α -Pineno	7,811	0,54%	97%
2	Canfeno	8,350	0,41%	95%
3	β -Pineno	10,646	0,41%	94%
4	o-Cimeno	11,236	0,22%	92%
5	D-Limoneno	11,404	0,29%	92%
6	Eucaliptol	11,506	0,39%	89%
7	Bicyclo[4,1,0]heptan-3-ol, (1 α ,3 α ,4 β ,6 α)-	4,7,7-trimetil-, 13,994	0,05%	53%
8	2-Nonanona	14,153	0,04%	84%
9	Undecano	14,516	0,06%	87%
10	Nonanal	14,676	0,06%	84%
11	Terpineol	18,544	0,07%	92%

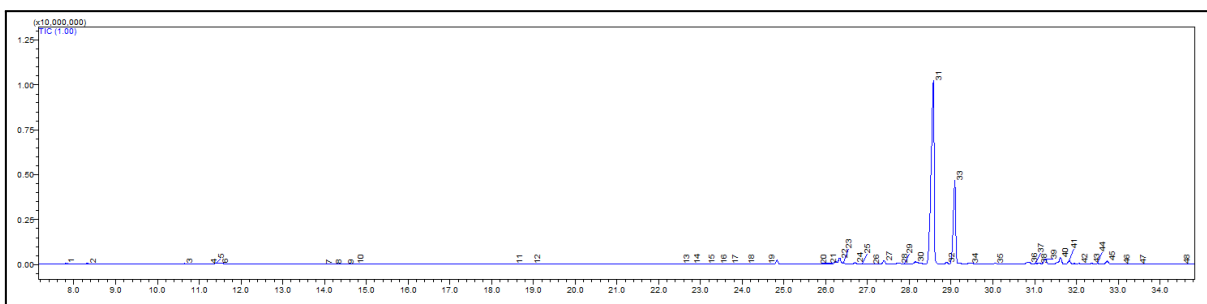
12	Undecano	18,980	0,06%	91%
13	Ácido sulfuroso, 2-etil-hexil iso-hexil éster	22,556	0,10%	91%
14	6,10,14-Trimetil-pentadecan-2-ol	22,789	0,04%	81%
15	2-Undecanona	23,142	0,05%	86%
16	Tridecano	23,433	0,07%	89%
17	Undecanal	23,710	0,03%	76%
18	(1-Metilpenta-1,3-dienil)benzeno	24,101	0,07%	63%
19	Dodecano, 4,6-dimetil-	24,579	0,08%	90%
20	(1S,1aS,1bR,4S,5S,5aS,6aR)-1a,1b,4,5a-Tetrametil decahidro-1,5-metano-ciclopropa[a]indeno	25,820	0,04%	79%
21	3a,7-Metano-3aH-ciclopenta-cicloocteno, 1,4,5,6,7,8,9,9a-octahidro-1,1,7-trimetil-, [3aR-(3 α ,7 α ,9 α)]	25,917	0,13%	91%
22	1,2,4-Meteno-1H-indeno, octahidro-1,7a-dimetil-5-(1-metiletil)-, [1S-(1 α ,2 α ,3a β ,4 α ,5 α ,7 α)]	26,326	2,44%	94%
23	Humuleno	26,421	0,29%	84%
24	Copaeno	26,700	0,37%	94%
25	1H-3a,7-Metanoazuleno, 2,3,4,7,8,8a-hexahidro-3,6,8,8-tetrametil-, [3R-(3 α ,3a β ,7 β ,8 α)]	26,865	0,09%	88%
26	Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-, [1S-(1 α ,2 β ,4 β)]	27,096	0,03%	79%
27	Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-,[1S-(1 α ,2 β , 4 β)]	27,393	0,87%	97%
28	1H-3a,7-Metanoazuleno,	27,760	0,48%	90%

	2,3,4,7,8,8a-hexahidro-3,6,8,8-tetrametil-, [3R-(3 α ,3 $\alpha\beta$,7 β ,8 α)]			
29	Valerena-4,7(11)-dieno	27,887	0,05%	87%
30	(4aR,8aS)-4a-Metil-1-metileno-7-(propan-2-iliden o)decahidronaftaleno	28,149	0,95%	91%
31	(-)-Aristoleno	28,578	60,78%	95%
32	1H-Ciclopropa[a]naftaleno, 1a,2,6,7,7a,7b-hexahidro-1,1,7,7a-tetrametil-, [1aR-(1 α ,7 α ,7 $\alpha\alpha$,7 $\beta\alpha$)]	28,887	0,55%	95%
33	1H-Ciclopropa[a]naftaleno, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahidro-1,1,7,7a-tetrametil-, [1aR-(1 α ,7 α ,7 $\alpha\alpha$,7 $\beta\alpha$)]	29,089	22,64%	97%
34	Isolongifoleno, 4,5-diidro-	29,453	0,44%	86%
35	(E)- β -Fameseno	30,058	0,27%	95%
36	γ -Muuroleno	30,863	0,83%	92%
37	Naftaleno, 1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-	31,025	0,14%	86%
38	Benzeno, 1-(1,5-dimetil-4-hexenil)-4-metil-	31,109	0,05%	91%
39	Naftaleno, decahidro-4a-metil-1-metileno-7-(1-metiletenil)-, [4aR-(4 α ,7 α ,8 α)]	31,248	1,28%	96%
40	α -Guaiéno	31,614	1,90%	92%
41	α -Muuroleno	31,831	0,87%	96%
42	Azuleno, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metilet enil)-, [1S-(1 α ,7 α ,8 α)]	32,069	0,09%	89%
43	γ -Muuroleno	32,37	0,21%	93%
44	(-)- α -Panasinsen	32,509	0,14%	91%

45	Naftaleno, 1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1S-cis)-	32,735	0,83%	86%
46	cis-Calameneno	33,084	0,09%	89%
47	α -Calacoreno	33,472	0,06%	78%
48	Álcool de cariofileno	34,530	0,05%	83%

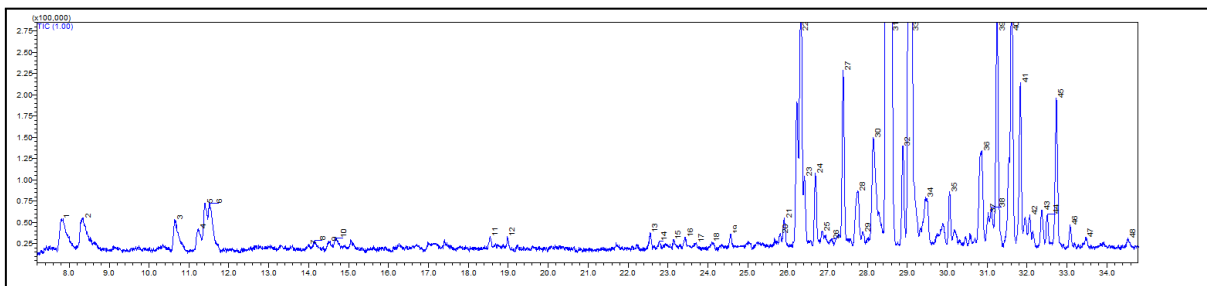
Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE D – Cromatograma dos compostos orgânicos da geoprópolis de *M. scutellaris*.



Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE E – Cromatograma de geoprópolis ampliado em 100 vezes.



Fonte: Elaborado pelo autor.