

PADRONIZAÇÃO DE EXTRATIVOS DE GEOPRÓPOLIS DE *MELIPONA FASCICULATA SMITH (TIÚBA)**

STANDARDIZATION OF EXTRACTIVES OF GEOPROPOLIS OF *MELIPONA FASCICULATA SMITH (TIUBA)*

Mayara Soares Cunha **

Richard Pereira Dutras ***

Marisa Cristina Aranha Batista ****

Bruno Vinicius de Barros Abreu ****

Janalle Rocha dos Santos ****

Vanessa do Amaral Neiva *****

Flavia Maria Mendonça do Amaral *****

Maria Nilce de Sousa Ribeiro *****

Resumo: *Melipona fasciculata* Smith (tiúba), abelha social sem ferrão, produz mel, cera e geoprópolis sendo cultivada no Estado do Maranhão. O trabalho objetivou o desenvolvimento e validação de metodologia analítica para padronização de extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata*, fundamentada na concentração de flavonóides e polifenóis totais. Os geoprópolis foram coletados em meliponários no município de Palmerândia, na região da Baixada Ocidental Maranhense. Dos geoprópolis foram obtidos extratos alcoólicos, hidroalcoólicos e aquosos, empregando planejamento fatorial de operação de extração (maceração e aparelho de Soxhlet), hidromódulo (relação droga/solvente) e líquido extrator (etanol 100%, etanol 70%, etanol 50% e água). Nos extratos foi determinada a concentração de polifenóis e flavonóides totais, por métodos colorimétricos com reagente Folin-Ciocalteu e cloreto de alumínio, medidos por espectrometria na região do UV-Vis. Os resultados demonstraram que os extratos obtidos por processo de maceração com etanol puro e etanol a 70% na relação de hidromódulo 1:5, apresentaram maiores rendimentos extrativos e teores de polifenóis e flavonóides totais. Os dados validam metodologia analítica para padronizar extrativos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith no município de Palmerândia e contribuem para determinar o padrão de qualidade deste produto natural.

Palavras-chave: Geoprópolis. *Melipona fasciculata*. Padronização de extratos. Flavonóides totais. Polifenóis totais.

Abstract: *Melipona fasciculata* Smith ("tiúba"), native and stingless bees that produces honey, wax and geoprópolis and is cultivated in Maranhão State. This study aimed to standardize the methodology for the extraction of geoprópolis employing the quantification of total polyphenols and flavonoids compounds as parameters. The geoprópolis proceeding from "meliponarios" of city Palmerândia-MA of which were obtained from alcoholic extracts, hydroalcoholic and aqueous using factorial design factors: operation of extraction (maceration and apparatus Soxhlet) hidromodul (ratio drug / solvent) and extractor liquid (100% ethanol, 70% ethanol, 50% ethanol and water). In the extracts was evaluated the concentration of total polyphenols and flavonoids, through the Folin-Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric methods using UV-Vis spectrophotometric method. The results showed that the extracts obtained with pure ethanol and 70% ethanol and hidromodul 1:5, showed higher extraction efficiency, and higher concentrations of total polyphenols and flavonoids. The results valid the analytical method to extratives *Melipona fasciculata* geoprópolis as basis for the obtaining of data for the quality control and standardization of the product.

Keywords: Geoprópolis. *Melipona fasciculata*. Standardization of extracts. Total Flavonoids. Total polyphenol.

* Trabalho premiado durante o XXI Encontro do SEMIC realizado na UFMA entre os dias 17 e 19 de dezembro de 2009

** Graduanda (Farmácia), Bolsista Iniciação Científica CNPq, Laboratório Farmacognosia I, Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMA. E-mail: mayara_301@hotmail.com.

*** Pós-graduando (Doutorando), Programa RENORBIO, Laboratório Farmacognosia I, Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMA.

**** Pós-graduando (Mestrado em Ciências da Saúde), Laboratório Farmacognosia I, Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMA.

***** Graduanda (Medicina), bolsista Iniciação Científica CNPq, Laboratório Farmacognosia I, Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMA.

***** Doutora em Produtos Naturais e Cinéticos Bioativos, Laboratório de Farmacotécnica Homeopática, Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMA.

***** Doutora em Química Orgânica, Laboratório Farmacognosia I, Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMA.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é rico em espécies de abelhas sociais nativas, conhecidas como abelhas indígenas sem ferrão ou meliponíneos. Atualmente são criadas comercialmente em agrupamentos de colônias, denominados meliponários, que constituem a meliponicultura. As abelhas sem ferrão produzem tanto própolis como geoprópolis. Própolis são formadas pelas abelhas que coletam material resinoso das plantas e misturam com cera produzida, enquanto, para formar geoprópolis, as abelhas, além dos materiais resinosos e cera, misturam com terra ou barro (SANTOS, 2002; APICULTURA, 2004).

Melipona fasciculata Smith (tiúba) vem sendo cultivada há séculos pela população indígena, é boa produtora de mel, além de produzir o geoprópolis. Ambos os produtos possuem boa aceitação pela população e valor comercial (KERR, 1987; NOGUEIRA-NETO, 1997; CÂMARA *et al.*, 2004).

Características organolépticas, assim como a presença de flavonóides, triterpenos e saponinas em extratos hidroalcoólicos de geoprópolis de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith), cultivadas nos municípios de São Bento, no estado do Maranhão, foram demonstradas por Nogueira *et al.* (2004), e os teores de fenólicos e flavonóides de geoprópolis na região da Baixada maranhense por Dutra *et al.* (2008). Segundo Abreu *et al.* (2006), os extratos hidroalcoólicos de geoprópolis da região do Cerrado maranhense são próprios para o consumo humano, de acordo com os teores de compostos fenólicos e flavonóides totais presentes.

O geoprópolis de abelhas sem ferrão tem se destacado também por seus efeitos terapêuticos. Ações antiinflamatória e antinociceptiva do extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba, provenientes do estado do Maranhão, foram demonstradas por Gomes (2005). Atividade antimicrobiana *in vitro* contra patógenos orais do extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba foi descrita por Maciel (2005). Dualibe *et al.* (2007) comprovaram atividade antimicrobiana do extrato de geoprópolis de abelha tiúba contra *Streptococcus mutans*, presentes na cavidade bucal, sugerindo que o extrato pode ser usado como alternativa para evitar cárie. Assunção (2008) demonstrou atividade antitumoral *in vitro* e *in vivo*, constatando que o tratamento profilático com geoprópolis aumenta a sobrevivência dos animais testados.

Em relação a própolis de *Apis mellifera*, os efeitos terapêuticos têm sido atribuídos aos diversos compostos fenólicos, especialmente os flavonóides, sendo comprovado, ainda, alguns ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos fenólicos, álcoois e cetonas. Estudos têm demonstrando a

correlação de níveis de substâncias flavonoídicas e atividade antioxidante e outras atividades biológicas em própolis brasileira (PARK *et al.*, 1998; BANKOVA, 2005; DA SILVA *et al.*, 2006).

Adelmann (2005), em estudos de padronização de metodologia de extração de própolis de *Apis mellifera*, demonstrou que o melhor método de extração para a obtenção dos compostos biologicamente ativos é a maceração com etanol puro como solvente extrator, a 45 °C por 24 horas e reextração por mais 24 horas, na mesma temperatura.

A padronização de extratos de produtos naturais, fundamentada em análise química de constituintes ou metabólitos secundários, representa parâmetro de avaliação de integridade indispensável no controle de qualidade (KOO *et al.*, 1997; FANCO; BUENO, 1999; ADELMANN, 2005; LONGHINI *et al.*, 2007; CASTRO *et al.*, 2007).

Própolis de abelhas sem ferrão são utilizados popularmente para tratamento de diferentes doenças, com várias atividades biológicas já comprovadas (VELIKOVA *et al.*, 2000; MACIEL, 2005; BANKOVA; POPOVA, 2007; ASSUNÇÃO, 2008; FARNESI *et al.*, 2009; LIBERIO *et al.*, 2009), porém, para o uso no sistema de saúde pública, é necessária a padronização química do produto natural na garantia da qualidade, eficácia e segurança.

Diante da importância social, econômica e ecológica do potencial meliponícola existente no Estado do Maranhão, bem como do desenvolvimento observado no setor, da situação do mercado internacional dos produtos apícolas e da possibilidade de inserção de produtos oriundos de geoprópolis de *Melipona fasciculata*, o presente trabalho visa o desenvolvimento e validação de metodologia analítica para padronização de extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata*, fundamentada na concentração de flavonóides e polifenóis totais.

2 METODOLOGIA

2.1 Coleta das amostras

As coletas de geoprópolis de *Melipona fasciculata* foram realizadas com auxílio de espátulas esterilizadas, diretamente das colmeias em meliponários, durante o mês de março de 2008, no Povoado Centro no município de Palmeirândia, região da Baixada Ocidental Maranhense (Fig.1); em seguida as amostras foram acondicionadas, separadamente em frascos de vidros âmbar, esterilizados e mantidos sob refrigeração (ABREU *et al.*, 2006; DUTRA *et al.*, 2008).

2.2 Análises sensoriais

As amostras de geoprópolis (Fig.2) foram submetidas às análises sensoriais de aroma, cor

e sabor (BRASIL, 2001).

2.3 Obtenção dos extratos de geoprópolis

Os extratos de geoprópolis foram obtidos empregando planejamento fatorial: operação de extração (maceração e extração por aparelho de Soxhlet), hidromódulo (relação droga/solvente) e líquido extrator (etanol 100%, etanol 70%, etanol 50% e água). Amostras de 50 g de geoprópolis foram reduzidas a pó por meio de contusão com o auxílio de grau e pistilo. Os pós foram macerados separadamente em etanol absoluto (100%), etanol 70%, etanol 50% e água, com relações de hidromódulos de 1:2 e 1:5 por 24 horas. As soluções extrativas de geoprópolis de tiúba com cada tipo de solvente foram filtradas e os resíduos submetidos à segunda extração (reextração), sob as mesmas condições, por mais 24 horas. As soluções extrativas, após filtração, foram concentradas em evaporador rotativo e secas até peso constante. Os extratos de geoprópolis foram codificados de EG1_M a EG8_M, acondicionados em frascos âmbar e mantidos em dessecadores para as posteriores análises.

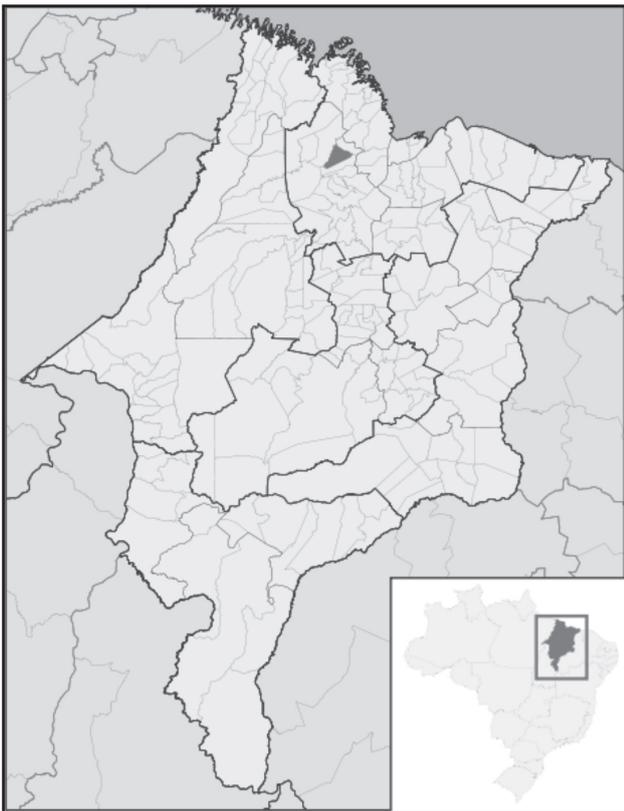


Figura 1 - Amostra de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) coletada em Palmeirândia, município do Estado do Maranhão
Fonte: AZEVEDO, 2009

Amostras de pó de geoprópolis de tiúba (50g) foram extraídas em aparelho de Soxhlet com etanol absoluto (100%), etanol 70%, eta-

nol 50% e água, com relações de hidromódulos de 1:2 e 1:5, separadamente. As soluções extrativas obtidas por maceração e aparelho de Soxhlet foram filtradas, concentradas em evaporador rotativo e o rendimento dos extrativos determinados por gravimetria, expressos como porcentagem de sólidos solúveis totais presentes por grama de amostra inicial de geoprópolis de tiúba (DUTRA et al., 2008). Os extratos foram codificados de EG1_c a EG8_c.



Figura 2 - Amostra de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) coletada em Palmeirândia, município do Estado do Maranhão
Fonte: ABREU, 2008

2.4 Prospecção química dos extratos de geoprópolis

Os extratos hidroalcoólicos, alcoólicos e aquosos foram submetidos à abordagem química para verificação de compostos das classes dos fenólicos, triterpenos, esteróides e alcalóides (MATOS, 1997).

2.5 Quantificação dos polifenólicos totais dos extratos de geoprópolis

A concentração dos polifenólicos totais foi determinada utilizando reagente de Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio a 20%, usando espectrofotômetro Cary 50 UV-Vis a 760 nm. Concentrações de ácido gálico foram usadas como padrões e os resultados obtidos foram expressos em porcentagem (%) (WOISKY; SALATINO, 1998; CHAILLOU et al., 2004; FUNARI; FERRO, 2006; DUTRA et al., 2008).

2.6 Quantificação dos teores de flavonóides totais dos extratos de geoprópolis

A concentração de flavonóides foi determinada por meio do método colorimétrico com solução metanólica de cloreto de alumínio, usando espectrofotômetro Cary 50 UV-Vis a 425 nm. Concentrações de quercetina (Merck)

foram usadas como padrões e os resultados obtidos foram expressos em porcentagem (%). (WOISKY; SALATINO, 1998; FUNARI; FERRO, 2006; DUTRA *et al.*, 2008).

2.7 Análise estatística

As análises espectrofotométricas foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como médias \pm desvio padrão e analisada por Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas (*Newman-Keuls*) utilizando o software *Graph Pad Prism*, versão 4.03, tomando-se o valor de $p \leq 0,05$ como nível máximo e significância estatística.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* apresentaram-se como fragmentos rígidos e de diferentes tamanhos, grânulos de consistência heterogênea, inodoros, coloração marrom escuro e sabor amargo.

Os rendimentos extrativos das preparações obtidas por maceração e remaceração, a partir das amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata*, empregando, separadamente, etanol 100%, etanol 70%, etanol 50% e água; nas proporções de 1:2 e 1:5, estão dispostas na Tabela 1. Observamos que os EG5_M e EG1_M obtidos com etanol 100%, na relação de hidromódulo 1:5 e 1:2, apresentaram maiores rendimentos extrativos (15,11% e 11,15%, respectivamente), evidenciando que as variáveis

Tabela 1 - Rendimento (%) dos extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith obtidos por maceração (24h) e remaceração (+24h), com emprego de diferentes relações de hidromódulo e líquidos extratores

Extrato	Hidromódulo	Líquido extrator	Rendimento (%)		Rendimento Total (%)
			24h	+24h	
EG1M	1:2	Etanol 100%	8,43	2,72	11,15%
EG2M	1:2	Etanol 70%	4,93	2,74	7,67%
EG3M	1:2	Etanol 50%	3,64	2,71	6,35%
EG4M	1:2	Água	4,04	1,77	5,81%
EG5M	1:5	Etanol 100%	10,68	4,51	15,11%
EG6M	1:5	Etanol 70%	4,97	4,92	9,89%
EG7M	1:5	Etanol 50%	3,99	3,47	7,56%
EG8M	1:5	Água	7,75	3,20	10,95%

Tabela 2 - Rendimento (%) dos extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith obtidos em aparelho de Soxhlet, com emprego de diferentes relações de hidromódulo e líquidos extratores

Extrato	Hidromódulo	Líquido extrator	Rendimento (%)
EG1S	1:2	Etanol 100%	4,83
EG2S	1:2	Etanol 70%	3,72
EG3S	1:2	Etanol 50%	3,08
EG4S	1:2	Água	2,30
EG5S	1:5	Etanol 100%	10,62
EG6S	1:5	Etanol 70%	8,15
EG7S	1:5	Etanol 50%	7,29
EG8S	1:5	Água	4,87

líquido extrator e hidromódulo são fatores que interferem nos processos extrativos. Esses dados corroboram com Franco *et al.* (2000) e Longhini *et al.* (2007) com própolis de *Apis mellifera*, em que a extração com etanol puro apresentou maior rendimento.

Na avaliação de rendimento dos extratos de geoprópolis, obtidos em aparelho de Soxhlet, os resultados foram semelhantes aos obtidos por maceração (Tabela 2), comprovando maior rendimento nas amostras extraídas com etanol a 100% e com maior hidromódulo (EG5_S e EG6_S).

Os resultados da abordagem química dos

Tabela 3 - Avaliação qualitativa e semiquantitativa de constituintes químicos dos extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith obtidos por maceração e remaceração, com emprego de diferentes relações de hidromódulo

Extrato/Hidromódulo		Compostos fenólicos*		Triterpenos		Esteróides		Alcalóides	
		24 h	+24 h	24 h	+24 h	24 h	+24 h	24 h	+24 h
Hidromódulo 1:2	EG1M	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
	EG2M	+++	+++	++	+++	-	-	-	-
	EG3M	++	+++	++	++	-	-	-	-
	EG4M	+	++	-	-	-	-	-	-
Hidromódulo 1:5	EG5M	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
	EG6M	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
	EG7M	++	++	++	+	-	-	-	-
	EG8M	+	++	-	-	-	-	-	-

* Resultados expressos como média dos ensaios de avaliação qualitativa e semiquantitativa de constituintes químicos realizados em triplicata nos extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, obtidos por maceração (24h) e remaceração (+24h), com emprego de diferentes relações de hidromódulo (EG1M - EG8M). Critérios quanto ao grau de intensidade dos constituintes analisados: (+++) resultado fortemente positivo, (++) resultado moderadamente positivo, (+) resultado fracamente positivo e (-) resultado negativo.

Tabela 4 - Avaliação qualitativa e semiquantitativa de constituintes químicos dos extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, obtidos em aparelho de Soxhlet, com emprego de diferentes relações de hidromódulo

Extrato/Hidromódulo		Compostos fenólicos*	Triterpenos	Esteróides	Alcalóides
Hidromódulo 1:2	EG1S	+++	+++	-	-
	EG2S	+++	++	-	-
	EG3S	++	++	-	-
	EG4S	+	-	-	-
Hidromódulo 1:5	EG5S	+++	+++	-	-
	EG6S	+++	+++	-	-
	EG7S	++	++	-	-
	EG8S	+	-	-	-

* Resultados expressos como média dos ensaios de avaliação qualitativa e semiquantitativa de constituintes químicos realizados em triplicata nos extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, obtidos em aparelho de Soxhlet, com emprego de diferentes relações de hidromódulo (EG1S - EG8S). Critérios quanto ao grau de intensidade dos constituintes analisados: (+++) resultado fortemente positivo, (++) resultado moderadamente positivo, (+) resultado fracamente positivo e (-) resultado negativo.

extratos alcoólico, hidroalcoólico e aquoso de geoprópolis de *Melipona fasciculata*, obtidos pelo processo de maceração/remaceração e com aparelho de Soxhlet (Tabelas 3 e 4), demonstram presença de substâncias fenólicas, triterpênicas e ausência de esteróides e alcalóides. A análise desses resultados evidencia que a concentração dos constituintes químicos varia de acordo com

líquido extrator utilizado, sendo comprovado maiores extrativos fenólicos e triterpênicos nos extratos alcoólicos e hidroalcoólicos. Nossos dados corroboram aos publicados por Marques (2006) e Azevedo (2008) com geoprópolis de *Melipona fasciculata*, coletada na Baixada Maranhense, nos anos de 2005 e 2007, respectivamente.

Tabela 5 - Teores de flavonóides e polifenóis totais nos extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, obtidos por maceração e remaceração, com emprego de diferentes relações de hidromódulo

Extrato/Hidromódulo		Flavonóides totais (%) ^{a, b}		Polifenóis totais (%) ^{a, c}	
		24 horas	+24 horas	24 horas	+24 horas
Hidromódulo 1:2	EG1M	0,40 ± 0,010	0,47 ± 0,007	11,28 ± 0,006	13,40 ± 0,009
	EG2M	0,33 ± 0,008	0,21 ± 0,005	14,35 ± 0,021	12,85 ± 0,008
	EG3M	0,08 ± 0,002	0,11 ± 0,002	10,48 ± 0,008	14,12 ± 0,003
	EG4M	0,04 ± 0,002	0,06 ± 0,004	7,36 ± 0,003	7,53 ± 0,012
Hidromódulo 1:5	EG5M	1,82 ± 0,011	1,85 ± 0,01	34,12 ± 0,01	35,92 ± 0,01
	EG6M	1,65 ± 0,006	1,60 ± 0,002	37,04 ± 0,011	35,08 ± 0,02
	EG7M	1,39 ± 0,003	1,43 ± 0,007	36,31 ± 0,004	36,95 ± 0,007
	EG8M	1,35 ± 0,01	1,36 ± 0,006	29,44 ± 0,006	29,19 ± 0,013

(a) Resultados expressos como médias ± desvio padrão dos ensaios de avaliação quantitativa flavonóides totais e polifenóis totais nos extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, obtidos por maceração (24h) e remaceração (+24h), com emprego de diferentes relações de hidromódulo (EG1M - EG8M) (n: 3), (b) expresso como equivalente de quercetina; (c) expresso como equivalente de ácido gálico.

Tabela 6 - Teores de flavonóides e polifenóis totais nos extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, obtidos em aparelho de Soxhlet, com emprego de diferentes relações de hidromódulo

Extrato/Hidromódulo		Flavonóides totais (%) ^{a, b}	Polifenóis totais (%) ^{a, c}
Hidromódulo 1:2	EG1S	0,39 ± 0,005	11,47 ± 0,009
	EG2S	0,47 ± 0,007	14,35 ± 0,005
	EG3S	0,38 ± 0,007	13,93 ± 0,006
	EG4S	0,05 ± 0,006	7,73 ± 0,001
Hidromódulo 1:5	EG5S	0,52 ± 0,015	12,43 ± 0,008
	EG6S	0,32 ± 0,002	10,75 ± 0,009
	EG7S	0,39 ± 0,003	13,24 ± 0,004
	EG8S	0,069 ± 0,004	8,99 ± 0,009

(a) Resultados expressos como médias ± desvio padrão dos ensaios de avaliação quantitativa flavonóides totais e polifenóis totais nos extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, obtidos em aparelho de Soxhlet, com emprego de diferentes relações de hidromódulo (EG1S - EG8S) (n: 3), (b) expresso como equivalente de quercetina; (c) expresso como equivalente de ácido gálico

Os valores de flavonóides e polifenóis totais nos extrativos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* são demonstrados nas Tabelas 5 e 6, respectivamente. Os teores de flavonóides nos macerados com 24 horas variaram de 0,8% a 1,85% (Tabela 5), com maiores valores nos extratos aquoso e etanólico a 100%, na relação de hidromódulo 1:5 (EG5_M). Os teores de flavonóides totais na maceração com mais 24 horas (remaceração) apresentaram resultados semelhantes.

Os extratos EG1_S a EG8_S, obtidos com aparelho de Soxhlet, apresentaram valores de flavonóides variando entre 0,05% a 0,52%

(Tabela 6), sendo evidenciados valores inferiores aos extraídos por maceração; entretanto o extrato EG5_S obtido com etanol a 100%, na relação de hidromódulo 1:5 apresentou maior concentração.

Dutra et al. (2008) demonstraram teores de flavonóides de 0,17% a 6% em geoprópolis de *Melipona fasciculata* de diferentes localidades do estado do Maranhão, cujas médias dos teores superam os valores mínimos estabelecidos na legislação brasileira para qualidade de própolis de *Apis mellifera*.

Os teores de compostos fenólicos totais nos macerados de geoprópolis de *Melipona*

fasciculata, obtidos nesse estudo, variaram de 7,36% a 37,04%. Os extratos etanólicos e hidroalcoólicos, com hidromódulo 1:5, apresentaram maiores valores de polifenóis totais. Os valores de polifenóis totais encontrados nos extrativos de geoprópolis obtidos com aparelho de Soxhlet variaram de 7,73% a 14,35%, em ambas as relações de hidromódulos. Resultados semelhantes foram descritos por Cunha et al. (2004) em métodos extrativos com própolis de *Apis mellifera*.

Vale enfatizar que, com o procedimento de maceração por mais 24 horas (remaceração), foram obtidas concentrações mais elevadas de compostos fenólicos e flavonóides totais quando comparados aos valores obtidos na primeira extração (Tabela 5), comprovando, assim, a importância de realização de extração sequencial nas amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata*. Dados semelhantes foram obtidos por Adelmann (2005) com própolis de *Apis mellifera*.

Como a classificação de padrão de identidade e qualidade de própolis de *Apis mellifera* está relacionada aos teores de flavonóides e polifenóis totais (BRASIL, 2001) e considerando que atualmente não dispomos de legislação específica para produtos de abelhas sem ferrão, estudos de padronização de produtos apícolas são essenciais na transformação em produto alimentício e/ou farmacêutico; assim esse estudo certamente contribuirá na determinação da qualidade e validação de geoprópolis da *Melipona fasciculata* Smith (tiúba).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstrados nesse estudo evidenciam que a obtenção de extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) sofre influência das variáveis: procedimento extrativo, líquido extrator e hidromódulo. Isso comprova que maceração com emprego de etanol puro, na relação de hidromódulo de 1:5, representa o extrato com melhor perfil químico, fundamentado nos teores de polifenóis e flavonóides totais, podendo ser utilizado como parâmetro para padronização na obtenção de extratos do material em estudo, contribuindo no padrão de qualidade.

AGRADECIMENTOS

Ao BASA pelo auxílio financeiro do projeto "Caracterização da própolis de geoprópolis de tiúba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith) como base para certificação do recurso natural"; ao CNPq pelas bolsas de Iniciação Científica de Mayara Soares Cunha e Vanessa do Amaral Neiva; à FAPEMA pelas bolsas de Mestrado de Bruno Vinicius de Barros Abreu e Marisa

Cristina Aranha Batista, e bolsa de Doutorado de Richard Pereira Dutra; à Central Analítica do Departamento de Química/UFMA pelo uso do espectrofotômetro UV-Vis.

REFERÊNCIAS

- ABREU, B.V.B. *Polifenóis de geoprópolis de Melipona fasciculata Smith (tiúba) coletadas em municípios do Cerrado maranhense*. Monografia (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2008.
- ABREU, B.V.B.; BATISTA, M.C.A.; AZEVEDO, C.C.; DUTRA, R.P.; NOGUEIRA, A.M.C.; COSTA, M.C.P.; RIBEIRO, M.N.S. Quantificação de polifenóis de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith coletado no cerrado maranhense. *Revista de Ciências da Saúde*, v. 8, n. 1, p. 18-24, jun. 2006.
- ADELMANN, J. *Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante*. 186f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas), Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- APICULTURA. 2004. Disponível em: <<http://www.breyer.ind.br/apicultura/apicultura.htm>>. Acesso em: 7 jan 2009.
- ASSUNÇÃO, A.K.M. *Efeito antitumoral do tratamento profilático com extrato hidroalcoólico de geoprópolis de Melipona fasciculata Smith*. São Luís, 44f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Maranhão, 2008
- AZEVEDO, C.C.A. *Compostos fenólicos e atividade antioxidante de geoprópolis de Melipona fasciculata (Tiúba) cultivada na região da Baixada maranhense*. 46f. Monografia (Graduação em Farmácia), Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2009.
- BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J. Ethnopharmacol*, n. 100, p.114-117, 2005.
- BANKOVA, V.; POPOVA, M. Propolis of stingless bees: a promising source of biologically active compounds. *Pharmacognosy Reviews*, v.1, n.1, p. 88-92, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis, conforme consta dos Anexos desta Instrução Normativa. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 23 jan 2001. Seção 1, p. 18.
- CHAILLOU, L. L.; HERRERA, H. A.; MAIDANA, J. F. Estudo de própolis de Santiago Del Estero, Argentina. *Ciênc Tecnol Aliment*, v. 24, p. 11-15, 2004.
- CÂMARA, J.Q.; SOUSA, A.H. d.; VASCONCELOS, W.E. d.; FREITAS, R.S.; MAIA, P.H.S.; ALMEIDA,

- J.C.; MARACAJÁ, P.B.. Estudos de meliponíneos, com ênfase a *Melipona subnitida* D. no município de Jandaíra, RN. *Revista de Biologia e Ciência da Terra*. v. 4, n. 1, 2004.
- 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. O. Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. *J. Braz Chem Soc.*, v. 15, p. 964-970. 2004.
- SILVA, R. A. da; RODRIGUES, A. E.; MARCUCCI, M. C. Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. *Ciência Rural*, v. 36, n. 6, p. 1842-1848, 2006.
- DUALIBE, S.A.C.; GONÇALVES, A.G.; AHID, F.J.M.. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* counts *in vivo*. *J. Appl Oral Sci*, v. 15, p. 420-423. 2007
- DUTRA, R.P. *Determinação dos parâmetros físicos, físico-químico e químico de geoprópolis de Melipona compressipes fasciculata Smith (tiúba) de diferentes regiões geográficas do estado do Maranhão, Brasil*. São Luís, 89f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) - Universidade Federal do Maranhão. 2006.
- DUTRA, R.P.; CANTANHEDE, D.C.; ABREU, B.V.B.; BATISTA, M.C.A.; BEZERRA, J.L.; NOGUEIRA, A.M.C.; MASCENA, Z.; COSTA, M.C.P.; RIBEIRO, M.N.S.. Composição química e bioatividade de resinas vegetais coletadas por *Melipona fasciculata* Smith. *Jornal Brasileiro de Fitomedicina* v. 5, n. 20, 2007.
- DUTRA, R.P.; NOGUEIRA, A.M.C.; MARQUES, R.R.O.; COSTA, M.C.P.; RIBEIRO, M.N.S. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) em municípios da Baixada maranhense, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* v. 18. n. 4, p. 557-562, 2008.
- FANCO, S.L.; BUENO, J.H.F. Otimização de processo extrativo de própolis. *Infarma*, v. 11, p. 48-51, 1999.
- FRANCO, S.L.; BRUSCHI, M.L.; MOURA, L.P.P.; BUENO, J.H.F. Avaliação farmacognóstica da própolis da região de Maringá. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 9/10, p. 1-10, 2000.
- FUNARI, C. S.; FERRO, V.O. Análise de Própolis. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 26, n. 1, p. 171-178, jan/mar. 2006.
- GOMES, V.A. *Estudo da atividade farmacológica do extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba*. 48f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2005.
- KERR, W. Abelhas indígenas brasileiras (meliponíneos) na polinização e na produção de mel, pólen, geoprópolis e cera. *Inf Agropec.*, v. 13, p. 15-27. 1987.
- KOO, M.H.; PARK, Y.K. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, v. 61, p. 367-369, 1997.
- LIBÉRIO, S.A.; PEREIRA, A.L.A.; ARAÚJO, M.J.A.M.; DUTRA, R.P.; NASCIMENTO, F.R.F.; MONTEIRO-NETO, V.; RIBEIRO, M.N.S.; GONCALVES, A.G.; GUERRA, R.N.M. The potencial use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci., *Journal of Ethnopharmacology*, v. 125, p. 1-9, 2009.
- LONGHINI, R.; RAKSA, S.M.; OLIVEIRA, A.C.P.; SVIDZINSKI, T.I.E.; FANCO, S.L. Obtenção de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 17, n. 3, p. 388-395, 2007.
- MACIEL, A.A.B. *Atividade antimicrobiana da própolis e geoprópolis contra periodontopatógenos*. 35f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís. 2005.
- MARQUES, R.R.O. *Perfil químico do própolis obtido de geoprópolis de tiúba (Melipona compressipes fasciculata Smith)*. São Luís, 48p. Monografia (Graduação em Farmácia), Universidade Federal do Maranhão, 2006.
- MATOS, F.J. de A. *Introdução à fitoquímica experimental*. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997. 141 p.
- NOGUEIRA, A.M.C.; MATOS, R.R. de O.; COSTA, M.C.P.; RIBEIRO, M.N.S. Própolis da tiúba (*Melipona compressipes fasciculata*): aspectos químicos e físico-químicos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 56. Brasília. *Anais...* Brasília, DF: UNB, 2004.
- NOGUEIRA, A.M.C. *Determinação de caracteres físicos, químicos e físico-químicos do geoprópolis de Melipona compressipes fasciculata Smith (tiúba)*. 57f. Monografia (Graduação em Farmácia), Universidade Federal do Maranhão, São Luís. 2005.
- NOGUEIRA NETO, P. *Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão*. São Paulo: Ed. Parma Ltda, 1997. 446p.
- SANTOS, F.A.; BASTOS, E.M.A.; UZEDA, M.; CARVALHO, M.A.R.; FARIAS, L.M.; MOREIRA, E.S.A.; BRAGA, F.C. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, v.80, p.1-7, 2002.
- SILVA, PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; SATO, H.H.; ABREU, J.A.S. ALCICI, N. M.F. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 18, n. 3, p. 313-318, 1998.
- VELIKOVA, M.; BANKOVA, V.; MARCUCCI, M.C.; TSVETKOVA, I.; KUJUMGIEV, A. Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian Meliponinae. *Zeitschrift fur Naturforschung*, v. 55, p. 785-789, 2000.
- WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal Apiculture Research*. v. 37, p. 99-105, 1998.