

ESTABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA PRÓPOLIS PROCESSADA POR RADIAÇÃO IONIZANTE

Andréa H. MATSUDA e Nélida L. DEL MASTRO
amatsuda@net.ipen.br nelida@usp.br

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP
Av. Lineu Prestes 2.242
05508-900 Butantã, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

Própolis é o termo genérico dado a uma resina de coloração e consistência variada, coletada pelas abelhas da espécie *Apis mellifera* de diversas partes da planta como broto, botões florais e, também, de exsudados resinosos. Possui propriedades antimicrobianas, antifúngica e antiviral e muitas outras atividades biológicas como: antiinflamatória, antiúlcera, anestésica, antitumoral etc. Este trabalho tem por objetivo estudar o efeito da radiação ionizante de ^{60}Co sobre a estabilidade dos compostos fenólicos da própolis

Keywords: propolis, flavonoids, phenolic compounds, ionizing radiation

I. INTRODUÇÃO

Atualmente, sabe-se que a própolis é formada a partir de produtos do metabolismo das abelhas (ceras), de resinas de plantas (flavonóides, ácidos fenólicos, etc.), materiais que foram introduzidos durante sua elaboração e substâncias coletadas que sofreram algum tipo de modificação na sua estrutura por alguma enzima presente na saliva das abelhas^(1,2).

A composição química da própolis é muito complexa e variada, estando intimamente relacionada com a ecologia vegetal de cada região visitada pelas abelhas. De modo geral, contém 50-60% de resinas e bálsamos, 30-40% de ceras, 5-10% de óleos essenciais, 5% de grãos de pólen, além de microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês e traços de vitaminas B1, B2, B6, C e E^(1,3). Até o presente, cerca de 160 componentes foram identificados, principalmente compostos fenólicos. A maioria dos compostos fenólicos identificados pertence a dois grandes grupos: 1) fenilpropanóides (ácidos hidroxicinâmicos, flavonóides, lignanas, entre outros) e 2) terpenóides (mono, di, tri e sesquiterpenóides), cuja composição varia de acordo com a flora da região produtora^(4,5,6), a variedade da abelha rainha e ainda, com a variação sazonal⁽⁷⁾.

Dentre muitas técnicas de esterilização, a irradiação gama vem sendo reconhecida como um método eficiente na redução de microrganismos patogênicos e deteriorantes dos alimentos. Esta técnica, quando aplicada em alimentos, apresenta uma série de efeitos benéficos, incluindo o retardo no amadurecimento e prevenção de deterioração. Elimina insetos, parasitas, bactérias patogênicas, mofo e leveduras; e, em altas doses, esteriliza o produto, o que permite a estocagem em ambientes não refrigerados por longos períodos. A vida de

prateleira de muitas frutas, vegetais e carnes podem ser estendidos pelo processo de irradiação. O tipo de irradiação utilizado no tratamento de alimentos se limita a radiações provenientes dos raios gama de alta energia, raios X de até 5MeV e elétrons acelerados de até 10MeV⁽⁸⁾.

Este trabalho tem por objetivo estudar o efeito da radiação ionizante de ^{60}Co sobre a estabilidade dos compostos fenólicos da própolis, através da análise do teor de flavonóides totais, espectros de absorção na região UV e a identificação dos compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência.

II. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Material. Foram utilizadas 2 amostras de própolis “in natura” de *Apis mellifera*, da região de Juiz de Fora, Minas Gerais.

Métodos. Amostras de aproximadamente 100g de própolis, “in natura” de granulometria variada, acondicionadas em frascos de vidro, foram irradiadas com doses de 0, 5, 7 e 10kGy para a determinação de compostos fenólicos.

Utilizou-se uma fonte de Co-60 (Gammacell 220 AECL – Atomic Energy of Canada Ltd), localizada no Centro de Tecnologia das Radiações do IPEN – CNEN/SP, taxa de dose ao redor de 5,84kGy/h. O fator de uniformidade de dose foi de 1.13. As irradiações foram realizadas a temperatura ambiente, que oscilou entre 19°C e 28°C.

Análise de compostos fenólicos da própolis

Obtenção do extrato etanólico: Pesou-se 40g de amostra, previamente triturada, em um béquer de vidro Pyrex, adicionou-se 80mL de etanol a 80% e manteve-se sob

agitação por 3h. Em seguida, filtrou-se à vácuo, usando um filtro de 90mm, obtendo-se o extrato etanólico de própolis. Seguiu-se o mesmo procedimento para amostras irradiadas e não irradiadas.

Identificação dos compostos fenólicos por espectro de absorção na região ultravioleta: Foi pipetado uma alíquota de 5µL do extrato etanólico obtido segundo o procedimento descrito acima e diluiu-se 10.000 vezes com álcool etílico absoluto. Foi levantado o espectro entre 195 a 450nm utilizando um espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV – 1601 PC, usando células de quartzo de 1cm de caminho óptico.

Determinação quantitativa de flavonóides totais por espectrofotometria de absorção molecular⁽⁹⁾: Frascos de vidro contendo alíquotas de 0,5mL do extrato etanólico de própolis, previamente diluídas (100 vezes), foram adicionados 4,3mL de etanol a 80% (v/v), e 0,1mL de uma solução de cloreto de alumínio 2% (m/v). Os frascos controle foram preparados sem adição de cloreto de alumínio. Em seguida, foram agitados e deixados em repouso por 40 minutos, para reação. Procedeu-se à leitura da absorbância em comprimento de onda de 425nm, em células de 1cm de caminho óptico, utilizando-se espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV – 1601 PC. Para a determinação da significância estatística dos resultados do teor de flavonóides totais foi aplicado o teste T (Student) a nível de segurança de 5%, com auxílio do programa Statistic for Windows versão 6.0.

Determinação semi-quantitativa de compostos fenólicos da própolis por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC): A análise por HPLC foi realizada pipetando-se uma alíquota de 5µL do extrato etanólico e diluindo-a em 10mL de metanol, de modo a obter uma solução 2000 vezes diluída; em seguida foi filtrada por uma membrana de 0,45µ. O volume da amostra (loop) foi 20µL. As análises foram realizadas utilizando-se cromatógrafo líquido de alta eficiência modelo SPD – 10A e equipado com coluna de fase reversa modelo Shimpack CLC-ODS(m) de 150 x 4,6 mm e acoplado a um detector ultravioleta modelo SPD – 10AVP (faixa de comprimento de onda 190-600nm) operando a 275nm, 2 bombas modelo LC – 10ADVP e degaseificador de membrana, modelo DGU – 12A, marca Shimadzu. A fase móvel utilizada foi metanol: água: ácido acético glacial (64: 33: 3), com fluxo de 1mL/min, temperatura da coluna 37°C. O sistema foi isocrático⁽¹⁰⁾. Foi feita a identificação de compostos fenólicos pelo seu tempo de retenção utilizando padrões de artepelin-C, canferol, crisina, galangina e quercetina.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise do teor de flavonóides das amostras de própolis.

A partir dos extratos etanólicos de própolis foi determinado o teor de flavonóides totais. Os resultados referentes às amostras 1 e 2 estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 – Médias* do teor de flavonóides totais (mg/g) de amostras de própolis irradiadas.

Amostra 1	Dose (kGy)			
	0	5	7	10
Resultado 1	16,77	16,30	16,14	16,18
Resultado 2	16,53	16,06	16,10	16,18
Resultado 3	16,13	16,16	16,20	16,24
Média ± σ	16,47 ^a ± 0,32	16,17 ^a ± 0,12	16,15 ^a ± 0,05	16,20 ^a ± 0,03

Amostra 2	Dose (kGy)			
	0	5	7	10
Resultado 1	15,89	16,41	16,45	16,45
Resultado 2	16,09	16,42	16,42	16,16
Resultado 3	16,47	16,33	16,33	16,11
Média ± σ	16,15 ^a ± 0,29	16,38 ^a ± 0,07	16,40 ^a ± 0,06	16,24 ^a ± 0,2

*Médias com letras iguais não diferem entre si significativamente

De acordo aos resultados obtidos na Tabela 1 é possível observar não houve diferença significativa no teor de Flavonóides Totais com o aumento da dose de radiação aplicada. Isto significa que a ação da radiação sobre este tipo de composto não é apreciável, não havendo mudança nesse conteúdo ao menos nas condições ensaiadas neste estudo. Este dado é importante porquanto os flavonóides são responsáveis por importantes ações biológicas atribuídas à própolis.

Espectro de absorção da própolis: As Figuras 1a e 1b mostram os espectros de absorção na região do UV dos extratos etanólicos das amostras de própolis, de dois lotes diferentes, irradiadas e não irradiadas.

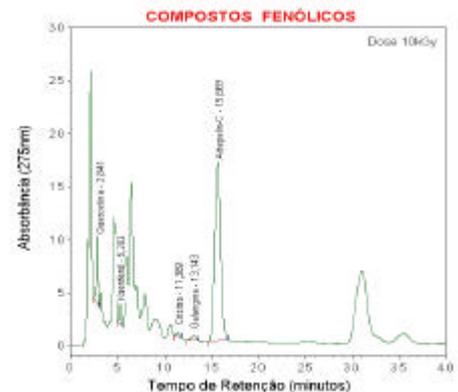
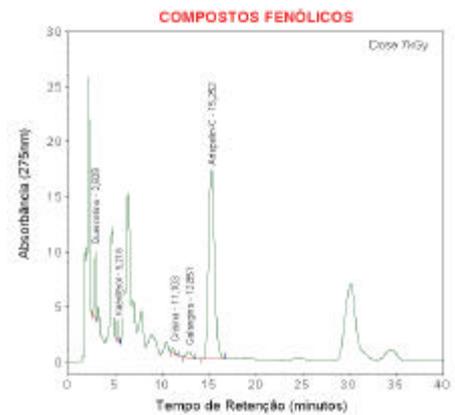
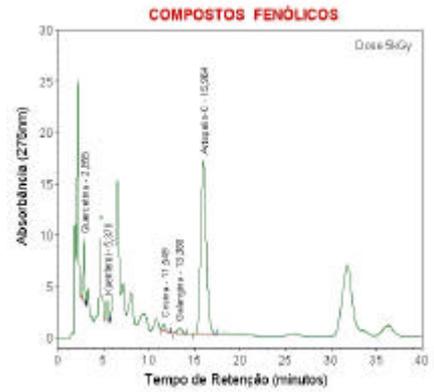
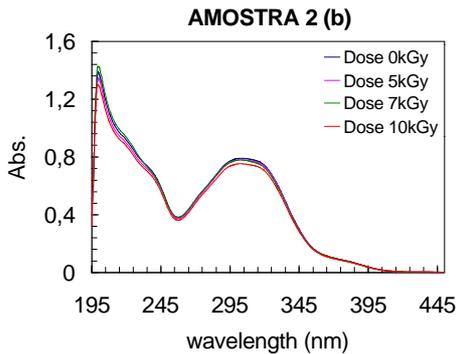
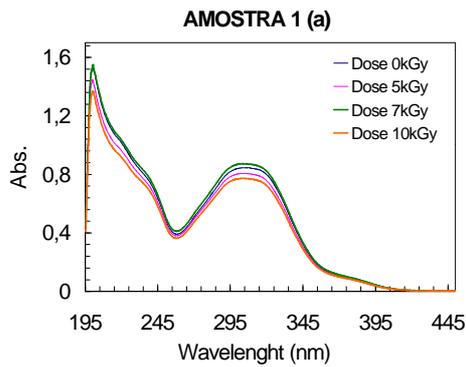
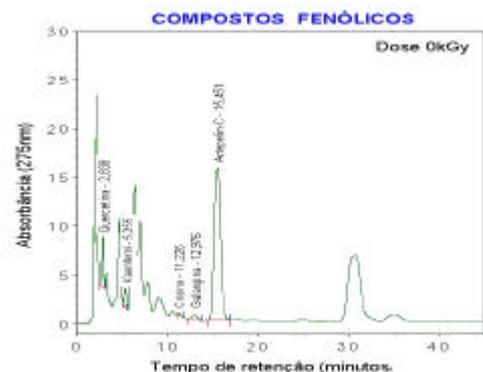
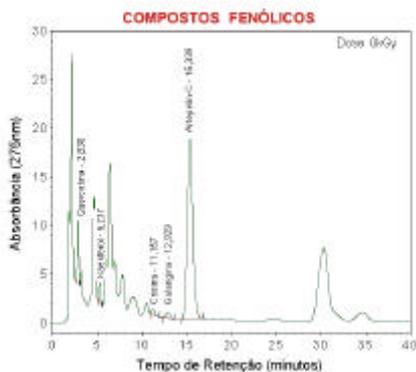


Figura 1 – Espectro de absorção dos extratos etanólicos da própolis. A) Amostra 1; b) Amostra 2

Através dos espectros obtidos, pode-se observar 2 picos característicos entre 195 e 450 nm, que identificam a própolis. Pode-se verificar que não houve alterações apreciáveis nos espectro de absorção entre as amostras não irradiadas e irradiadas com doses crescentes até 10kGy, indicando que não houve influência da radiação na composição química da própolis no que diz respeito aos grupos funcionais responsáveis pela absorção na região do ultravioleta.

Determinação semi-quantitativa de compostos fenólicos individuais: foi feita a identificação de compostos fenólicos pelo seu tempo de retenção (mediante o uso de padrões de artepelin-C, canferol, crisina, galangina e quercetina) e comparando as alturas dos respectivos picos, nas amostras não irradiadas e irradiadas. Os cromatogramas encontram-se nas Figuras 2a e 2b.

Figura 2a – Cromatogramas da amostra 1 de própolis obtidas por cromatografia líquida de alta eficiência



IV. CONCLUSÕES

A própolis pode ser submetida a tratamento por irradiação em doses de até 10kGy para eliminação de microrganismos indesejáveis. Os resultados do presente trabalho mostram que não houve alteração significativa no teor de flavonóides totais e nem na composição de compostos fenólicos aos quais são atribuídas importantes atividades biológicas.

AGRADECIMENTOS

A autora (A.H.M) agradece à *FAPESP* pelo suporte financeiro.

À Empresa MN Própolis Indústria, comércio e Exportação Ltda., pelo fornecimento das amostras de própolis e utilização do laboratório de controle de qualidade.

REFERÊNCIAS

[1] MARCUCCI, M.C. **Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity.** *Apidologie*, v. 26, p. 83-99, 1995.

[2] TULLOCH, A.P. **The composition of beeswax and other waxes secreted by insects.** *Lipids*, v. 5, n.2, p. 247-258, 1970.

[3] GHISALBERTI, E.L., **Própolis: a Review.** *Bee World*. v. 60, p. 59-84, 1979.

[4] GREENAWAY, W.; MAY, J.; SACAYS BROOK, T.; WHATLEY, F. R., **Identification by Gas Chromatography – Mass Spectrometry of 150 compounds in propolis.** *Z. Naturforsch. C.*, v. 46, p. 111-121, 1991.

[5] GREENAWAY, W.; SACAYS BROOK, T.; WHATLEY, F. R., **The Composition and Plant Origins of Propolis: a report of work at Oxford.** *Bee World*, v. 71, p. 107-118, 1990.

[6] BANKOVA, V. S.; DYULGEROV, A.; POPOV, S. S.; EVSTATIEVA, L.; KULEVA, L.; PUREB, O.; ZAMJANSAN, Z. **Propolis produced in Bulgaria and Mongolia – phenolic compounds and plant-origin.** *Apidologie*, 23(1), p. 79-85, 1992.

[7] BANKOVA, V. S.; BOUDOUROVA-KRASTEVA, G.; POPOV, S.; SFORCIN, J. M.; FUNARI, S. R. C., **Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis.** *Apidologie*, 29(4), p.361-367, 1998.

[8] ABIA. **O Sistema e a indústria agroalimentar no Brasil, diagnóstico de competitividade, indicadores e tendências.** ABIA, Departamento Agroindustrial da ABIA, São Paulo – 1993. P. 41.

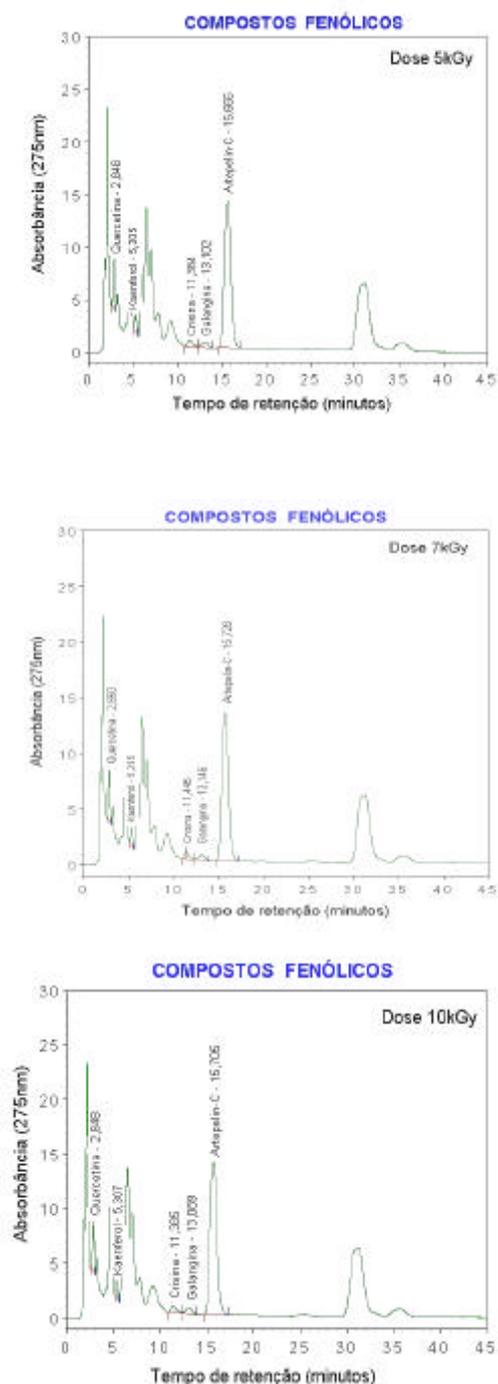


Figura 2b – Cromatogramas da amostra 2 de própolis obtidas por cromatografia líquida de alta eficiência.

Pela análise dos cromatogramas obtidos, observa-se que as alturas dos picos correspondentes a quercetina, canferol, crisina, galangina e artepelin-C não sofreram alteração mesmo naquelas amostras submetidas a dose máxima de 10kGy, bem como os tempos de retenção se mantiveram muito próximos.

[9] VENNAT, B.; GROSS, D.; POURRAT, A.; POURRAT, H. **Hamamelis virginiana: Identification and assay of proanthocyanidins, phenolic acids and flavonoids in leaf extracts.** Pharm. Acta Helv., 67(1), p. 11-14, 1992.

[10] HAYASHI, K.; KOMURA, S.; ISAJI, N.; OHISHI, N.; YAGI, K. **Isolation of antioxidative compounds from brazilian propolis: 3,4-Dihydroxy-5-prenylcinnamic Acid, a novel potent antioxidant.** Chem. Pharm. Bull., 47(11), p. 1521-1524, 1999

ABSTRACT

Propolis is the generic term of a resin of different colors and consistency collected by bees, *Apis mellifera*, from diverse parts of plants, buds and resinous exudates. It possesses antibacterial, antifungal and antiviral properties and many other biological activities such as antiinflammatory, antiulcer, local anaesthetic, antitumor, etc. The aim of this work is to study the effect of ^{60}Co ionizing radiation on the stability of phenolic compounds of propolis.