

## ***Avaliação da atividade antioxidante e perfil fitoquímico do extrato e borra da própolis vermelha de Alagoas***

A própolis é um produto natural de composição química complexa, formada por material gomoso e balsâmico. É um produto natural rico em compostos fenólicos, em especial flavonoides que apresentam diversas atividades farmacológicas, como atividade antioxidante, cicatrizante e anti-inflamatória. A própolis vermelha foi classificada como o 13º grupo, sua principal origem botânica foi identificada como exsudato resinoso de *Dalbergia ecastophyllum*, podendo ser encontrada, principalmente na região nordeste do Brasil. O extrato hidroalcoólico é a forma mais comum de comercialização da própolis. No processo de obtenção do extrato, uma fração rica em cera (borra) é descartada e pouco explorada no desenvolvimento de produtos derivados da própolis. Poucos estudos são realizados com a borra da própolis vermelha e diferentes propriedades podem estar oculta neste material. Dessa maneira, realizar um estudo comparativo entre o extrato hidroalcoólico e a borra da própolis vermelha de Alagoas torna-se relevante, possibilitando atestar o perfil químico. Nesse sentido, o objetivo central deste projeto visa avaliar a atividade antioxidante e perfil fitoquímico do extrato e borra da própolis vermelha de Alagoas. A própolis vermelha será utilizada para obtenção do extrato hidroalcoólico 30% (p/v) e seu resíduo (borra) será utilizado para análises. O extrato e a borra, serão utilizados para os ensaios fitoquímicos como obtenção do espectro UV-vis e a determinação dos teores de fenóis e flavonoides totais pelo método de Folin-Ciocalteu e cloreto de alumínio respectivamente. A caracterização físico-química como o potencial hidrogeniônico e a determinação do conteúdo total de sólidos solúveis. A atividade antioxidante do extrato e borra será determinada pelo método de DPPH. Todas as análises serão realizadas em triplicata e terão como parâmetro comparativo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Foram encontrados respectivamente no extrato da própolis vermelha e borra, teores de compostos fenólicos de 123,2 e 40,32 mgEAG. g-1 e flavonoides totais de 28,3 e 1,97 mgEQ. g-1. A atividade antioxidante apresentou atividade elevada de 89,59 % (extrato da própolis vermelha) e 39,59 (borra). Apesar do teor reduzido dos compostos fenólicos da borra, ainda é possível aplicar em desenvolvimento de produtos intermediários.

**Palavras-chave:** Própole; Antioxidante; Compostos fenólicos.

## ***Evaluation of antioxidant activity and phytochemical profile of red propolis extract and dregs from Alagoas***

Propolis is a natural product of complex chemical composition, formed by gummy and balsamic material. It is a natural product rich in phenolic compounds, especially flavonoids that have different pharmacological activities, such as antioxidant, healing and anti-inflammatory activity. Red propolis was classified as the 13th group, its main botanical origin was identified as resinous exudate of *Dalbergia ecastophyllum* and can be found mainly in the northeast region of Brazil. The hydroalcoholic extract is the most common form of commercialization of propolis. In the process of obtaining the extract, a fraction rich in wax (sludge) is discarded and little explored in the development of products derived from propolis. Few studies are carried out with red propolis dregs and different properties may be hidden in this material. In this way, carrying out a comparative study between the hydroalcoholic extract and the red propolis dregs from Alagoas becomes relevant, making it possible to certify the chemical profile. In this sense, the main objective of this project is to evaluate the antioxidant activity and phytochemical profile of the extract and dregs of red propolis from Alagoas. Red propolis will be used to obtain the hydroalcoholic extract 30% (w/v) and its residue (sludge) will be used for analysis. The extract and the dregs will be used for phytochemical tests, such as obtaining the UV-vis spectrum and determining the total phenol and flavonoid contents by the Folin-Ciocalteu method and aluminum chloride, respectively. The determination of the total content of soluble solids. The antioxidant activity of the extract and dregs will be determined by the DPPH method. All analyzes will be carried out in triplicate and will use the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) as a comparative parameter. The levels of phenolic compounds of 123.2 and 40.32 mgEAG were found respectively in red propolis and sludge extract. g-1 and total flavonoids of 28.3 and 1.97 mgEQ. g-1. The antioxidant activity showed high activity of 89.59% (red propolis extract) and 39.59 (leaves). Despite the reduced content of phenolic compounds in the dregs, it is still possible to apply it in the development of intermediate products.

**Keywords:** Propolis; Antioxidant; Phenolic compounds.

Topic: **Farmacologia**

Received: **25/10/2022**

Approved: **04/01/2023**

Reviewed anonymously in the process of blind peer.

**Fabrcia Ferreira dos Santos**

Faculdade Estácio de Alagoas, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/5946353916425091>  
[fabrcia-net@hotmail.com](mailto:fabrcia-net@hotmail.com)

**Mariana Bezerra**

Faculdade Estácio de Alagoas, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/9376395976390358>  
[maarianab@live.com](mailto:maarianab@live.com)

**Williane Pereira da Silva**

Faculdade Estácio de Alagoas, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/7364465302135784>  
[valdemir.costa@estacio.br](mailto:valdemir.costa@estacio.br)

**Tamires Alves do Nascimento** 

Faculdade Estácio de Alagoas, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/2068100673818730>  
<http://orcid.org/0000-0001-9726-8107>  
[tamires.nascimento@estacio.br](mailto:tamires.nascimento@estacio.br)

**Valdemir da Costa Silva** 

Universidade Federal de Alagoas, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/8068920795583918>  
<http://orcid.org/0000-0002-2069-2812>  
[valdemir.costa@estacio.br](mailto:valdemir.costa@estacio.br)



DOI: 10.6008/CBPC2236-9600.2023.001.0003

### **Referencing this:**

SANTOS, F. F.; BEZERRA, M.; SILVA, W. P.; NASCIMENTO, T. A.; SILVA, V. C.. Avaliação da atividade antioxidante e perfil fitoquímico do extrato e borra da própolis vermelha de Alagoas. *Scire Salutis*, v.13, n.1, p.27-33, 2023. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2236-9600.2023.001.0003>

## **INTRODUÇÃO**

A própolis vermelha classificada como o 13<sup>o</sup> grupo é um produto natural com elevado potencial medicinal tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária. Nos últimos anos, chamou a atenção do mercado nacional e internacional e tem sido amplamente utilizada na terapêutica, na forma de solução principalmente pela via oral, ou, ainda, através de preparações semissólidas. Os efeitos terapêuticos têm sido atribuídos aos diversos compostos fenólicos que compõe a própolis. Destes, os flavonoides podem ser considerados os principais compostos, encontrando-se ainda, alguns ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos fenólicos, álcoois e cetonas (NASCIMENTO et al., 2019; SILVA et al., 2020).

A principal forma de preparo do extrato da própolis ocorre por maceração, utilizando solventes como etanol e água ou apenas água, obtendo o extrato hidroalcolico e extrato aquoso respectivamente. Posterior obtenção do extrato hidroalcolico, um subproduto deste processamento é formado e denominado como 'borra' ou resíduo da extração hidroalcolica da própolis. Atualmente, a borra ainda não possui valor comercial e normalmente é descartada, não sendo utilizada para aplicação biológica ou desenvolvimento de produtos. Dessa forma, acredita-se que a borra ainda pode conter os princípios ativos da parte resinosa da própolis vermelha estando associado com os constituintes da borra, tornando o material rico em diferentes compostos.

Diante do exposto, esse projeto busca avaliar e comparar a atividade antioxidante e perfil fitoquímico do extrato e borra da própolis vermelha de Alagoas. Dessa forma, permitirá qualificar e quantificar compostos com atividades biológicas, possibilitando o reaproveitamento da matéria prima, assim como gerar valor de comercialização, uma vez que possíveis aplicações biológicas e tecnológicas poderão ser realizadas.

## **METODOLOGIA**

### **Coleta da própolis**

A própolis subtipo 13 (própolis vermelha), foi obtida do apiário localizado na região de mangue do município de Marechal Deodoro-AL (S9°42'10.2924" e W35°54'21.5316"). As amostras serão coletadas e acondicionadas sob refrigeração por 24 horas. Para a obtenção do extrato serão trituradas em liquidificador industrial, acondicionadas em sacos plásticos hermeticamente fechados e armazenadas em freezer (-20 °C).

### **Obtenção do extrato hidroalcolico da borra – (EBPV)**

Preparou-se extrato hidroalcolico de própolis à 30% (p/v). Pesou-se 85,5 g de própolis bruta e devidamente limpa e submeteu-se a um processo de maceração com álcool etílico comercial 99 °GL (0,2 L) a temperatura ambiente, com troca do solvente de 48 em 48 horas. O extrato foi filtrado, acondicionado em frasco de vidro âmbar e identificado para conservação.

### **Quantificação do conteúdo de sólidos totais**

A concentração de sólidos totais será determinada em balança de secagem por infravermelho da

Shimadzu (Tóquio, Japão) a uma temperatura de 120 °C. A análise será realizada em triplicata e os valores serão expressos em percentual de teor de sólidos solúveis (25,08%, porcentagem de sólidos solúveis), de acordo com a Equação (1):  $\%SS = [(m_i - m_f) / m_i] \times 10$ .

### **Determinação de flavonoides totais**

A determinação do teor de flavonoides será realizada através do método colorimétrico de cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>) descrito por Woisky (1996), onde se adiciona solução metanólica de AlCl<sub>3</sub> 2% a solução do extrato em quantidades adequadas. Homogeneizar-se e deixa-se reagir à temperatura ambiente no escuro. Após uma hora, a absorbância é medida a 420 nm. Os teores de flavonoides totais são obtidos a partir de curva de calibração realizada com quercetina (mg/ml).

### **Espectro UV-vis**

Os espectros de absorção molecular dos extratos de própolis vermelha serão obtidos utilizando soluções etanólicas dos extratos e borra diluídas a uma concentração de 60 a 80 µg/ml. Os espectros de absorção na região UV-Vis das amostras serão obtidos em triplicata na faixa de 200 a 500 nm, utilizando-se cubeta de vidro (com capacidade para 3 ml) e espectrofotômetro UV-vis.

### **Atividade antioxidante**

A atividade sequestrante do radical DPPH foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Sales 2012, com modificações. Preparou-se uma solução 0,12 mg/ml de radical DPPH (Sigma Aldrich) em etanol absoluto e foi armazenada em vidro âmbar. Com a solução de DPPH em temperatura ambiente, adicionou-se 2 ml em balões volumétricos âmbar, em seguida adicionou-se alíquotas do EBPV (20 µg/ml a 40µg/ml), posteriormente aguardou a reação no escuro durante 30 minutos.

Pós reação, fez-se a leitura das amostras em espectrofotômetro em comprimento de onda de 517 nm. O branco das amostras foi feito com uma pequena alíquota de etanol absoluto + DPPH e do etanol sozinho. A porcentagem de radical DPPH• remanescente, no tempo de 30 minutos, foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de DPPH}\bullet\text{Remanescente} = [(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / (A_{\text{controle}} - A_{\text{branco}})] \times 100$$

Onde:

A<sub>amostra</sub> = absorbância da reação entre a solução do radical DPPH• e a amostra antioxidante;

A<sub>branco</sub> = absorbância da solução de solvente utilizado para preparar a amostra antioxidante;

A<sub>controle</sub> = absorbância do radical DPPH• com uma pequena alíquota do solvente utilizado para preparar a amostra, em substituição à solução da própria amostra em estudo.

Após a determinação do radical DPPH remanescente, determinou a porcentagem de inibição do radical DPPH• através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ de inibição do radical DPPH}\bullet = 100 - \% \text{ DPPH}\bullet \text{ Remanescente}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Obtenção do extrato hidroalcolólico e borra da própolis vermelha de Alagoas

O extrato da própolis vermelha foi obtido e apresentou característica organoléptica condizente com a própolis bruta, com cor característica avermelhada e aroma resinoso balsâmico. O teor de sólidos solúveis totais recuperado foi de 27,5% do total de material bruta utilizada (Figura 1). O resultado obtido corrobora com a literatura (SILVA et al., 2020). A borra do extrato de própolis vermelha de Alagoas (BPV) foi obtida com êxito e apresentou coloração marrom avermelhado, e aspecto pegajoso. O rendimento da borra foi de 72,5 % do extrato, e com percentual de umidade de 25,8%.



Figura 1: Extrato hidroalcolólico e borra da própolis vermelha de Alagoas.

### Curva de calibração e flavonoides totais

Para se obter os dados quantitativos de flavonoides totais do extrato da borra da própolis vermelha (EBPV) em estudo, foi construída uma curva de calibração padrão de quercetina com  $R^2$  maior que 0,99, figura 2. A tabela 1 apresenta os teores de flavonoides totais quantificados nas amostras de EBPV e EHPV.

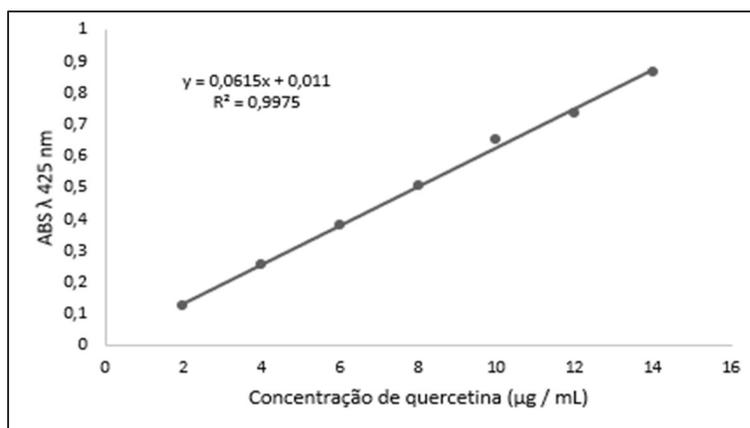


Figura 2: Curva padrão para flavonoides (quercetina).

Tabela 1: Conteúdo total de flavonoides em amostras de borra da própolis vermelha (BPV).

Classe quantificada	Amostra	
	EHPV	EBPV
<sup>1</sup> Flavonoides Totais	28,3 ± 1,78*	1,97 ± 0,96*
<sup>2</sup> Fenóis Totais	123,2 ± 0,12*	40,32 ± 3,48*

\*Média ±, CV = Coeficiente de Variação\*;

<sup>1</sup> - mg EQ. g<sup>-1</sup> Expressos como equivalente de quercetina, por g de própolis vermelha.

<sup>2</sup> - mg EAG. g<sup>-1</sup> Expressos como equivalente de ácido gálico por g de própolis vermelha);

No trabalho descrito em 2008, foi quantificado no extrato etanólico os teores de compostos fenólicos totais (%) e flavonoides totais (%) de diversos subtipos de própolis, destacou a própolis do subtipo 13, encontrando teores em maior quantidade para fenóis totais (41,63%) e para flavonoides totais o terceiro maior (3,29%). Por outro lado, Silva et al. (2020) apresenta valores que variam entre 8,51 e 10,11 % m/m, o que indica uma menor concentração de fenólicos quando comparada com a obtida neste trabalho. Com isso, observa-se enorme variabilidade do teor de fenólicos totais, assim como flavonoides totais registrados na literatura, correlacionando com a complexa composição química da própolis, sendo está dependente principalmente da flora e da sazonalidade.

Os achados deste trabalho mostram que a BPV apresenta flavonoides remanescente posterior obtenção do extrato. Neste sentido, o material da borra que é descartado após a obtenção do extrato, poderá ser utilizado como um produto intermediário para obtenção de produtos à base da borra por ainda possui teores de flavonoides totais representativos, uma vez que o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) preconiza teor mínimo de 0,25% (m/m) de flavonoides contido no extrato para comercialização.

### Espectro UV-vis da borra (conteúdo remanescente da parte resinosa da própolis)

O espectro de absorção na região do UV-Visível (Ver fig. 9) foi realizado na região de absorção entre as regiões de 200 a 500 nm. O perfil de absorção entre os comprimentos de onda de 270 - 330 são atribuídos aos flavonoides, logo, os picos correspondentes aos respectivos extratos podem estar relacionados aos compostos dihidroflavonóis, flavononas, uma vez que o ombro formado foi em função do comprimento de onda 295 (Figura 3).

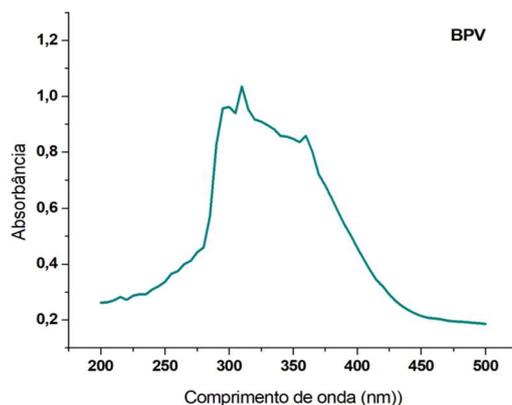


Figura 3: Espectro UV-vis da borra da própolis vermelha.

### Atividade Antioxidante

A tabela 2 mostra os resultados da avaliação da atividade antioxidante para o extrato da própolis vermelha. As concentrações mínimas e máximas do extrato (20µg e 40 µg) apresentaram percentual de inibição do radical DPPH de (21,8% e 29,6%). Não foi encontrado na literatura a avaliação da atividade antioxidante realizada com a borra da propolis. Os resultados obtidos relevam que a borra apresenta baixa atividade antioxidante, devido o teor de compostos fenóis estar bastante reduzido. No entanto, ainda está presente baixa atividade antioxidante, que poderá agregar propriedade biológica a produtos obtidos a base

da BPV.

**Tabela 2:** Avaliação da atividade antioxidante do Extrato da Borra da própolis vermelha (EBPV) (% inibição do radical DPPH).

Amostras	$\mu\text{g/mL}$	EHPV	EEBV
	20	81,82 $\pm$ 0,85	31,82 $\pm$ 0,55
Concentração	30	88,51 $\pm$ 0,26	38,51 $\pm$ 0,96
	40	89,59 $\pm$ 1,73	39,59 $\pm$ 1,03

\*Média  $\pm$ , CV = Coeficiente de variação\*

### Correlação entre compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante

Realizaram-se análises estatísticas quanto à correlação dos teores dos compostos fenólicos totais e flavonoides totais e atividade antioxidantes do EHPV. As análises da correlação dos compostos fenólicos revelaram-se positiva e forte (figura 4A), assim como, a correlação entre o percentual de flavonoides totais e a atividade antioxidante, mostrou-se ser positiva e forte (3B).

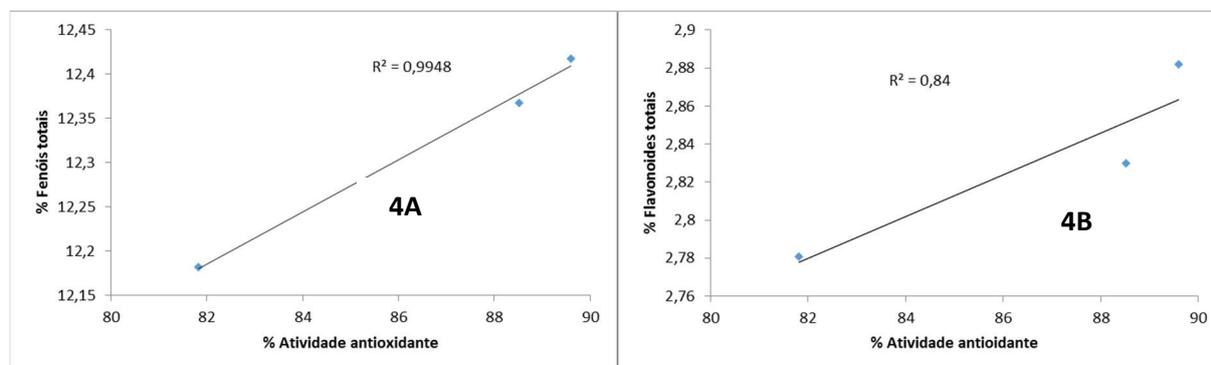
Segundo Oldoni (2007), grupos de compostos fenólicos (fenóis simples e ácidos fenólicos) possui importante função na atividade antioxidante, assim como os flavonoides.

**Tabela 3:** Correlação entre compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante.

Correlação	$r$	$r^2$
DPPH x /compostos fenólicos	0,99	0,99
DPPH x / flavonoides totais	0,92	0,84

$r$  – Coeficiente de correlação

$r^2$  - Coeficiente de determinação



**Figura 4:** Correlação da atividade antioxidante em função dos teores de compostos fenólicos totais (3A) e flavonoides totais (3B).

## CONCLUSÕES

A própolis vermelha se apresenta como um importante produto natural rico em compostos fenólicos e atividade antioxidante. Os ensaios realizados inferem aplicação da borra da própolis vermelha, para o desenvolvimento de produtos intermediários voltados para a indústria alimentícia e cosmética, visto que apresenta uma considerável atividade antioxidante.

## REFERÊNCIAS

NASCIMENTO, T. G.; ARRUDA, R. E. S.; ALMEIDA, E. T. C.; OLIVEIRA, J. M. S.; BASÍLIO JÚNIOR, I. D.; PORTO, I. C. C. M.; SABINO, A. R.; TONHOLO, J.; GRAY, A.; EBEL, R. E.; CLEMENTS, C.; ZHANG, T.; WATSON, D. G.. Comprehensive

multivariate correlations between climatic effect, metabolite-profile, antioxidant capacity and antibacterial activity of Brazilian red propolis metabolites during seasonal study. *Sci. Rep.*, v.9, n.18293, 2019.

SILVA, V. C.; SILVA, A. M. G. S.; BASÍLIO, J. A. D.; XAVIER, J. A.; NASCIMENTO, T. G.; NAAL, R. M. Z. G.; LAMA, M. P.; LEONELO, L. A. D.; MERGULHÃO, N. L. O. N.; MARANHÃO, F. C. A.; SILVA, D. M. W.; OWEN, R.; DUARTE, I. F. B.; BULHÕES, L. C. G.; BASÍLIO ÚNIOR, I. D.; GOULART, M. O. F.. New insights for red propolis of Alagoas: Chemical constituents, topical membrane formulations and their physicochemical and biological properties. **Molecules**, v.25, n.24, p.5811, 2020.

OLDONI, T. L. C.. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie Apis melífera**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A.. Analysis os propolis: some parameters ond prodecore for chemical fualty control. **J. Apic. Res.**, v.37, n.2, p.99-105, 1998.

Os autores detêm os direitos autorais de sua obra publicada. A CBPC – Companhia Brasileira de Produção Científica (CNPJ: 11.221.422/0001-03) detêm os direitos materiais dos trabalhos publicados (obras, artigos etc.). Os direitos referem-se à publicação do trabalho em qualquer parte do mundo, incluindo os direitos às renovações, expansões e disseminações da contribuição, bem como outros direitos subsidiários. Todos os trabalhos publicados eletronicamente poderão posteriormente ser publicados em coletâneas impressas ou digitais sob coordenação da Companhia Brasileira de Produção Científica e seus parceiros autorizados. Os (as) autores (as) preservam os direitos autorais, mas não têm permissão para a publicação da contribuição em outro meio, impresso ou digital, em português ou em tradução.

Todas as obras (artigos) publicadas serão tokenizadas, ou seja, terão um NFT equivalente armazenado e comercializado livremente na rede OpenSea ([https://opensea.io/HUB\\_CBPC](https://opensea.io/HUB_CBPC)), onde a CBPC irá operacionalizar a transferência dos direitos materiais das publicações para os próprios autores ou quaisquer interessados em adquiri-los e fazer o uso que lhe for de interesse.



Os direitos comerciais deste artigo podem ser adquiridos pelos autores ou quaisquer interessados através da aquisição, para posterior comercialização ou guarda, do NFT (Non-Fungible Token) equivalente através do seguinte link na OpenSea (Ethereum).

*The commercial rights of this article can be acquired by the authors or any interested parties through the acquisition, for later commercialization or storage, of the equivalent NFT (Non-Fungible Token) through the following link on OpenSea (Ethereum).*



<https://opensea.io/assets/ethereum/0x495f947276749ce646f68ac8c248420045cb7b5e/44951876800440915849902480545070078646674086961356520679561158085878290055169/>