



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA



**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E PALINOLÓGICA DA PRÓPOLIS
PRODUZIDA NO LITORAL NORTE DO ESTADO DA BAHIA**

VANESSA RIBEIRO MATOS

FEIRA DE SANTANA – BA

2012



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA



CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E PALINOLÓGICA DA PRÓPOLIS PRODUZIDA NO LITORAL NORTE DO ESTADO DA BAHIA

VANESSA RIBEIRO MATOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana como parte dos requisitos para obtenção do título de *Mestre em Ciências - Botânica*

ORIENTADOR: PROF. DR. FRANCISCO ASSIS RIBEIRO DOS SANTOS (UEFS)

FEIRA DE SANTANA – BA

2012

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Severino Matias Alencar

Escola Superior de Agricultura “Luís Queiroz”-USP

Profa. Dra. Geni da Silva Sodré

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus Cruz das Almas

Prof. Dr. Francisco Assis Ribeiro dos Santos

Universidade Federal de Feira de Santana

Orientador e Presidente da Banca

*“Dai-me Senhor, a perseverança das
ondas do mar, que fazem de cada recuo, um
ponto de partida para um novo avançar”*

Cecília Meirelles

AGRADECIMENTOS

Ao senhor **Deus** por todas as glórias alcançadas e pela força de me erguer cada vez que um obstáculo se opõe em minha vida.

Ao **CNPq** pela bolsa de mestrado concedida (Proc. 133690/2010-5, EditalMCT/CNPq nº 70/2009).

A todos do **Programa de Pós Graduação em Botânica** da UEFS em especial as secretárias **Adriana Santos** e **Gardênia Aires** e ao coordenador **Luís Fernando Pascholati Gusmão** por toda a ajuda fornecida ao longo desses dois anos.

Ao meu orientador **Francisco de Assis Ribeiro dos Santos**, pela competência na orientação, pela compreensão, paciência e pela oportunidade, por ter topado o desafio de juntos elaboramos essa dissertação.

Ao professor **Severino Matias Alencar**, à **Adna Prado** e a todos os integrantes do **Laboratório de Bioquímica e Análise Instrumental**, do Departamento de Agroindústria, Alimento e Nutrição (LAN) da Escola Superior de Agricultura “Luís Queiroz” (ESALQ-USP), pelo apoio infraestrutural à pesquisa e principalmente por todo o suporte para elaboração da parte química da pesquisa.

À **Vandira da Mata** da **EBDA** por estabelecer o contato com a Associação de Apicultores da Bahia. E ao apicultor **Gilmar Aguiar** por ter sido o responsável pela coleta das amostras.

Aos meus pais, **Joaquim Neves Matos Filho** e **Eliene Ribeiro Matos**, por todo o amor e apoio que sempre me deram ao longo da minha vida. Amo vocês.

Ao meu irmão, **Bruno Matos**, pelo companheirismo e enorme carinho, por está sempre disposto a ouvir minhas reclamações e lamúrias. Te amo mano!

Aos meus avôs, em especial ao meu avô paterno **Joaquim Neves Matos**, por todo o enorme apoio durante minha vida acadêmica o qual nunca me deixou desistir dos meus sonhos.

A todos os meus familiares, que mesmo à distância sempre torceram por minhas vitórias.

A **Ana Paula Silva, André Queiroz, Francisco Hilder, Jaílson Novais, Jorge Grilo, Joseane Carneiro, Luciene Lima, Luiz Junior, Marileide Saba, Marcel Carvalho, Marcos Dórea, Nayade Raihanne, Ricardo Landim, Rodolfo Alves, Paulino Pereira, Teresa Cristina, Thiago Lucas** e a professora **Claúdia Elena Carneiro**. Ao pessoal do Laboratório de Micromorfologia Vegetal (**LAMIV**) que com muita sabedoria, descontração e companheirismo ajudou na construção desse trabalho. Muito obrigado pessoal!

A minha turma do Mestrado: **Fábio Santos, Gerson Limão, Heitor Liuth, Luciano Pataro, Priscila Barreto e Pétala Gomes**. Pelo companheirismo adquirido durante esses dois anos de trabalho. Em especial, a **Ana Paula Conceição Silva**, minha irmã científica, pela amizade conquistada e pela ajuda ao longo da elaboração desse trabalho. Que venham muitas outras batalhas!

As minhas grandes amigas biólogas: **Camila Reis, Nanashara Carvalho, Taís Soares e Joicelene Regina (Joyce)**. Pela amizade que começou ainda na graduação. Por sempre me apoiarem independente de qualquer outra coisa. Amo vocês meninas!

A minha amiga-irmã **Vanessa Moreira** que ao longo desses quase dez anos de amizade sempre esteve ao meu lado nos melhores e piores momentos. Te amo irmãzinha.

Aos amigos adquiridos ao longo desses dois anos por intermédio do mestrado. Em especial, a minha vizinha **Uiara Catharina Soares e Silva**, pela ajuda na parte estatística do trabalho e por todo o companheirismo. Muito obrigada amiga!

Ao apicultor e grande amigo **José Elpídio**, por ter sido um dos grandes responsáveis pelo meu amor pela própolis. Por ter me apresentado o produto. E pelo incentivo ao longo da elaboração desse trabalho.

A professora **Fabiana Regina Nonato**, por também ter estabelecido o meu contato com a própolis. E por ser a maior responsável pelo meu amor pela Botânica. Por nunca ter desistido de mim. Por ter me incentivado quando motivação me faltava. E por ser a principal responsável por hoje em dia ser a pesquisadora que sou. Minha primeira orientadora. Nunca esquecerei os seus conselhos e da sua amizade.

A professora **Léa Maria dos Santos Lopes Ferreira** que também foi minha grande incentivadora e responsável por hoje em dia está vinculada à botânica.

Por fim, a todos os demais professores e pessoas que de certa forma contribuíram para meu amadurecimento acadêmico e profissional, ao longo desses anos.

Sumário

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

| | |
|--|-----------|
| INTRODUÇÃO..... | 1 |
| | |
| CAPÍTULO 1. Total phenolic contents of propolis produced in the north coastal region of Bahia State, Brazil | 6 |
| Resumo..... | 8 |
| Abstract..... | 9 |
| Introduction..... | 10 |
| Materials and methods..... | 13 |
| Results and discussion..... | 15 |
| Conclusions..... | 19 |
| References..... | 20 |
| | |
| CAPÍTULO 2. Perfil palinológico da própolis produzida no litoral norte do estado da Bahia..... | 23 |
| Resumo..... | 25 |
| Abstract..... | 26 |
| Introdução..... | 27 |
| Materiais e métodos..... | 29 |
| Resultados..... | 31 |
| Discussão..... | 41 |
| Conclusões..... | 46 |
| Referências..... | 47 |
| | |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 50 |

INTRODUÇÃO

Introdução

A própolis é uma substância resinosa coletada pelas abelhas *Apis mellifera* L. de diversas partes da planta, como do broto, botões florais e exsudatos resinosos; misturada com as secreções produzidas em seu organismo, que dá origem a um material de coloração e consistência variadas, usada para fechar pequenas frestas, embalsamar insetos mortos no interior da colméia e proteção contra agentes externos. Sua composição química é bastante complexa e variada, estando diretamente relacionado às plantas da quais as abelhas coletam as resinas (Masson, 1994; Teixeira *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2005; Freitas *et al.*, 2010). A esses constituintes químicos são atribuídos as diversas atividades biológicas da própolis (Ghisalberti, 1979; Alencar, 2002; Teixeira *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2005).

Desde a década de 1980, a própolis vem ganhando destaque nos mercados nacional e internacional tendo como consequência uma enorme valorização comercial (Funari, 2005). As informações a cerca do mercado da própolis no Brasil não são precisas; segundo Teixeira *et al.* (2003), estima-se que a produção anual no país seja em torno de 115 toneladas. Ainda de acordo com esses autores, conforme dados da JETRO (Japan Trade Organization), 92% de toda própolis consumida no Japão é de origem brasileira, gerando um faturamento em torno de US\$ 20 milhões por ano tornando atualmente o Brasil o terceiro maior produtor mundial do produto (Freitas *et al.*, 2010). Além de ter uma grande importância econômica para o país, é grande o interesse científico como pode ser constatado pelas centenas de artigos publicados nas últimas décadas (Perreira *et al.*, 2002)

A associação da origem botânica aos fatores climáticos da região implica diferenças marcantes no aspecto quantitativo e qualitativo da composição química do produto final, dificultando a obtenção de regularidade na eficácia farmacológica do produto. A determinação da origem geográfica e botânica aliada a sua composição química são de extrema importância garantindo assim uma maior qualidade da própolis produzida no Brasil (Alencar, 2002; Teixeira *et al.*, 2003).

A própolis produzida no Brasil é muito diversificada e esse fato pode ser explicado pelos diferentes biomas existentes nas regiões de coleta os quais têm flora diferenciada e particular. Estudos realizados por Park *et al.* (2002) reconheceram doze tipos diferentes de própolis levando em consideração suas características físico-químicas bem como suas

propriedades biológicas, mais um tipo foi recentemente reconhecido para a própolis produzida no estado de Alagoas, assim hoje há no país treze tipos de própolis (Luz *et al.*, 2007).

As amostras de própolis brasileiras têm mostrado diferenças significantes na sua composição química em relação à própolis produzida nas zonas temperadas. Por essa razão, a própolis brasileira têm se tornado objeto de grande interesse por parte dos cientistas (Lustosa *et al.*, 2008; Righi, 2008).

A análise palinológica é uma técnica valiosa na identificação das espécies vegetais que deram origem a produtos apícolas, além de contribuir assim na determinação de sua origem geográfica, o que permite fazer a distinção entre as diferentes regiões produtoras desses produtos. Cerca de 5% do peso da própolis é oriundo dos grãos de pólen. A presença dos grãos de pólen é decorrente em grande parte da ação do vento, que adiciona esses elementos botânicos à resina das exsudações das plantas (Ghisalberti, 1979; Barth *et al.*, 1999; Freitas *et al.*, 2010).

Estudo realizado por Park *et al.* (2002) com amostras da própolis proveniente do litoral norte do estado da Bahia demonstrou atividade antimicrobiana sobre as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*. Contudo, não existem trabalhos que quantifique o teor de fenólicos totais e caracterize os tipos polínicos presentes na própolis diferente do que ocorre com a própolis produzida no sul e sudeste brasileiro.

Tendo em vista o crescimento econômico e das pesquisas científicas sobre a própolis no país e a pouca informação sobre o produto no estado da Bahia, esse trabalho teve como principal objetivo: realizar o perfil palinológico e químico (quantificação do teor de fenólicos totais) da própolis produzida no litoral norte do Estado, fornecendo dados que auxiliem os apicultores locais obter a certificação da própolis da região de forma a garantir uma maior qualidade ao produto.

Referências Bibliográficas

- Alencar, S.M. 2002. **Estudo fitoquímico da origem botânica da própolis e avaliação da composição química de mel de *Apis mellifera* africanizada de diferentes regiões do Brasil**. Tese de Doutorado. Campinas: Faculdade de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas.
- Barth, O.M.; Dutra, V.M.L. & Justo, R.L. 1999. Análise polínica de algumas amostras de própolis do Brasil Meridional. **Ciência Rural**, **29**(4): 663-667.
- Freitas, A.S.; Barth, O.M. & Luz, C.F.P. 2010. Própolis marrom da vertente atlântica do Estado do Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação palinológica. **Revista Brasileira de Botânica**, **33**(2): 343-354.
- Funari, C.S. 2005. **Análise de própolis da Serra do Japi, determinação de sua origem botânica e avaliação de sua contribuição em processos de cicatrização**. Dissertação de Mestrado. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.
- Ghisalberti, E. L. 1979. Propolis: A review. **Bee World**, **60**(2): 59-84.
- Lustosa, S.R.; Neto, P.J.R.; Galindo, A.B.; Lívio, C.C. & Randau, K.P. 2008. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, **18**(3): 447-454.
- Luz, C.F.P.; Thóme, M.L.; Barth, O.M. 2007. Recursos tróficos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) na região de Morro Azul de Tíngua, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Botânica**, **30**(1): 29-36.
- Masson, B. 1994. **Própolis: Um antibiótico natural**. São Paulo: Gaia. 62 p.
- Pereira, A.S.; Seixas, F.R.M.S.S. & Aquino-Neto, F.R.A. 2002. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, **25**(2): 321-326.
- Park, Y.K.; Alencar, S.M. & Aguiar, C.L. 2002. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, **50**(9): 2502-2506.
- Park, Y.K.; Alencar, S.M.; Aguiar, C.L. & Paredes-Gusmán, J. 2005. Composição química de *Baccharis dracunculifolia*, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Ciência Rural**, **35**(4): 909-915.

Righi, A.A. 2008. **Perfil químico de amostras de própolis brasileira**. Tese de Doutorado. São Paulo: Universidade de São Paulo.

Texeira, E.W.; Message, D.; Meira, R.M.S.A. & Salatino, M. 2003. Indicadores da origem botânica da própolis: importância e perspectivas. **Boletim da Indústria Animal**, **60**(1): 83-106.

CAPITULO 1

Capítulo 1

*Total phenolic content of propolis produced in the north coastal region of Bahia State, Brazil**

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo analisar dezenove amostras de própolis pertencentes ao território do litoral norte do estado da Bahia quanto ao teor de fenólicos totais. O método de Folin-Ciocalteu foi utilizado para a quantificação espectrofotométrica dos fenóis totais. Obteve-se uma curva de calibração ($C = 87,95 + 0,585x$) tendo o ácido gálico como padrão, e leituras no comprimento de onda de 740 nm. As amostras da cidade de Inhambupe apresentaram os maiores ($36,78 \pm 1,52$ mg GAE/g) e menores ($7,68 \pm 2,58$ mg GAE/g) teores de fenólicos totais. O teor de fenólicos totais das amostras da própolis do litoral norte baiano foi inferior as encontradas para amostras de própolis de outras regiões brasileiras.

Palavras-chave: fenólicos totais, Folin-Ciocalteu, município de Inhambupe, *Apis mellifera*

Abstract

Total phenolic content from nineteen propolis samples produced in the Northern Coastal region of Bahia State was assessed. The samples were diluted and analyzed using the Folin-Ciocalteu method. Readings were performed at a wavelength of 740 nm. Next, these measurements were used to estimate the average content of total phenols in gallic acid equivalence, by the calibration curve's equation ($C=87.95+0.585x$). The municipality of Inhambupe displayed the highest ($36.78\pm 1,52$ mg GAE/g) and lowest ($7.68\pm 2,58$ mg GAE/g) values of phenol content among the samples analyzed. The results demonstrate that Bahia's propolis comply with the requirements of the Brazilian legislation. The values obtained are lesser to those found in other propolis samples in Brazil.

Key words: total phenolic, Folin-Ciocalteu, municipality of Inhambupe, *Apis mellifera*

Introduction

Propolis is a natural product, a resinous mixture produced by bees, in special the honey bee, *Apis mellifera* L. There are differences between the propolis produced by native bee species and introduced honey bees. The bees use resins from flowers, buds, branches and other plant exudates. Several studies have demonstrated that the chemical composition of propolis is similar to the exudates from the buds of the plants visited by the bees (SILVA, 2009; SOUSA et al., 2007). The gathering of the resin to prepare propolis is usually carried out after the gathering of nectar, at the warmer hours of the day, because it is at this time that bees find the propolis more malleable to handle (ADELMANN, 2005; PARK et al., 1998).

Bees are benefitted from the several biological activities of propolis (RIGHI, 2008). It is used for the protection of the hive, to encase invading insects in order to avoid rotting of their bodies and contamination of the colony; for the maintenance of the internal temperature of the hive, and in the cleaning of the alveoli where the queen deposit her eggs (SILVA et al., 2008).

The first studies addressing the analysis of the chemical composition of propolis were conducted in the 1970's in France and Russia (SILVA et al., 2008). More recent research have identified and characterized over 300 different chemical compounds in propolis from Brazil (ADELMANN, 2005).

The chemical composition of propolis is quite diverse and complex, being related to the phytogeographical constitution of the area where bees have foraged (BURIOL et al., 2009; CABRAL et al., 2009; CASTRO et al., 2007; SOUSA et al., 2007). The genetic variability of the queens can also affect the chemical composition of propolis (NASCIMENTO et al., 2007).

There are differences between the propolis produced in temperate and tropical regions. The propolis produced in temperate areas display rather similar chemical composition, and phenolic compounds are the major constituents (MARTINEZ, 2011). In the northern hemisphere, bees collect propolis only in the warmer periods, whereas in Brazil, due to its climate, the collection of propolis occurs practically throughout the entire year (CABRAL, 2008).

Due to the high plant biodiversity in Brazil, the propolis from the country has a quite distinctive chemical composition when compared to propolis from Europe and elsewhere (SILVA et al., 2008). In Brazil differences in the composition of phenolic compounds have been observed in propolis of the same floral origin from different regions of Brazil, something that do not usually occur in other countries. Bees in the northern hemisphere are quite selective in choosing the plants to collect resin, preferring species from the genus *Populus* (AGUIAR et al., 2003). The chemical composition of Brazilian propolis is indicated as one of the best in the world by several studies (SILVA et al., 2008). There are many more phenolic acids than flavonoids (RIGHI, 2008). The tremendous variety of therapeutic properties of propolis, as described in the scientific literature, is attributed to the presence of several phenolic compounds in its constitution (ADELMANN, 2005).

Brazilian propolis has been classified in 12 types according to chemical profile using the technique of absorbency spectrophotometry in the visible UV region, and also using the evaluation of their antimicrobial and antioxidant activities (CASTRO et al., 2007). Propolis from Alagoas state, however, was recently classified as a thirteenth type, the resin from which the propolis is prepared coming from mangrove regions (CABRAL et al., 2009). Propolis of type 6 occurs in the state of Bahia, and a number of studies have shown that its chemical composition is distinctive from the remainder propolis types, mainly due to the almost complete absence of flavonoids in its composition (CASTRO et al., 2007).

Brazilian legislation, dated from 2001, determines the identity and quality of propolis which is produced in the country. According to this regulation, the amount of phenolic compounds must be higher than 0.5% (m/m) (SILVA, 2009; ADELMANN, 2005).

Phenolic compound contents are variable and related to the location and time of propolis harvest, thus investigations on the composition of local propolis are of high importance (CABRAL et al., 2009; GÓMEZ-CARAVACA et al., 2006). The Folin-Ciocalteu method is used in the spectrophotometric quantification of total phenols (GÓMEZ-CARAVACA et al., 2006; CHANG, 2005). Spectrophotometric assays to control the quality of propolis is based on the difference between the amount of ultraviolet

light radiation emitted by the device and the amount absorbed by the sample at a given wavelength (CHANG, 2005).

In this study we analyze the content of total phenolic from propolis samples produced in Northern Coastal region of Bahia State, and compare the data obtained with that found in other propolis from Brazil.

Materials and methods

Origin of the samples

A total of 19 crude propolis samples were donated by the Beekeepers' Association of Bahia, through the Bahian Agricultural Development Company (Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola – EBDA), collected from February to November 2010, originating in nine municipalities of Bahia as illustrated by Figure 1. Table 1 contains the list of samples per municipality.

Propolis extraction

The work was conducted at the biochemical and instrumental analyses' laboratory of the Agroindustry, Food and Nutrition Department (LAN) of the Escola Superior de Agricultura “Luís Queiroz” (ESALQ-USP), Piracicaba - São Paulo.

Unrefined propolis samples were ground to a powder with the aid of liquid nitrogen. One gram from each sample in powder form was weighted and placed in individual Falcon tubes. 12.5 ml of ETOH (80%) was added to each tube, which were then placed in a hot tub at 70 °C for 30 minutes. Later the tubes were placed in a refrigerator for a minimum of 24 hours. Lastly each sample was filtered using common standard filters, resulting in the extracts.

Determination of total phenolic content

The Folin-Ciocalteu spectrophotometric method usually utilizes gallic acid to build the standard curve. 50 mg of gallic acid was dissolved in 10 mL of ETOH (100%), and distilled water was added until a volume of 100 mL was reached. Dilutions with distilled water were prepared to obtain solutions at 5, 10, 20, 40, 50, 60, 80 and 100 ug/ml.

A volume of 0.5 mL from each solution was transferred to a test tube, to which was added 2.5 mL of a Folin-Ciocalteu solution diluted in distilled water (10%). The solution was stirred and left to rest for five minutes. 2.0 mL of sodium carbonate solution (4%) was added and the solution was again stirred to mix well.

A “blank” solution was also prepared using 0.5 mL of distilled water replacing the gallic acid, and the same amounts of sodium carbonate and the Folin-Ciocalteu solution.

The solutions were allowed to rest for two hours in a dark place. Later the tubes containing the solutions were read at 740 nm, with the “blank” solution as zero. Triplicates of the samples were made.

The samples were diluted with ETOH (80%), in 1/10, 1/20, 1/50, 1/80 and 1/100 solutions, in order to try to obtain a less cloudy solution to facilitate the reading. In almost all the extracts the samples diluted to a 1/50 concentration were at the ideal concentration for reading, except the samples P1 and P2 which had to be diluted to a 1/100 concentration.

A volume of 0.5 mL of the diluted sample was transferred to a test tube, to which was added 2.5 mL of the Folin-Ciocalteu solution diluted in distilled water (10%). The solution was stirred to mix and then left to rest for five minutes. 2.0 mL of sodium carbonate solution (4%) was added and the solution was again stirred to mix well.

A “blank” solution was also prepared using 0.5 ml of ethanol (80%) replacing the extract, and the same amounts of sodium carbonate and the Folin-Ciocalteu solution. Triplicates of the samples were made. The solutions were allowed to rest for two hours in a dark place. The absorbance was measured at 740 nm in a spectrophotometer. The amount of total phenolic compounds was determined as in micrograms of gallic acid equivalent, using the equation obtained from the standard gallic acid graph.

Results and discussion

The amounts of total phenols estimated with the Folin-Ciocalteu reagent in the different samples ranged from 36.78 ± 1.52 to 7.68 ± 2.58 mg GAE/g (gallic acid equivalent by gram of extract) (Table 1).

The samples from Inhambupe displayed both the highest and smallest values of total phenols content among the ones analyzed in this study, respectively the samples INB3 with 36.78 ± 1.52 mg GAE/g and INB4 with 7.68 ± 2.58 mg GAE/g. The values obtained for the remainder samples from this municipality were: 23.37 ± 0.69 mg GAE/g (INB1) and 12.18 ± 0.30 mg GAE/g (INB2).

The municipality of Entre Rios has also displayed samples with high value of total phenols content, the samples ENR1 with 32.80 ± 2.4 mg GAE/g and ENR2 with 31.61 ± 2.18 mg GAE/g. The sample ALA5 (Alagoinhas) displayed a low value of 9.43 ± 1.18 mg GAE/g. In the remaining samples from the latter municipality the values found were quite close: 17.24 ± 0.58 mg GAE/g (ALA1), 19.02 ± 0.77 mg GAE/g (ALA2), 19.08 ± 0.83 mg GAE/g (ALA3) and 18.66 ± 0.60 mg GAE/g (ALA4).

TEI et al. (2008) tested the total phenol contents of five propolis samples from the state of Paraíba and five samples from the state of Minas Gerais, obtaining the following values 23.79-110.08 mg GAE/g (Paraíba); 61.41-129.11 mg GAE/g (Minas Gerais). These values are higher than the values obtained for the propolis samples from the northern coastal region of the state of Bahia. Taking in account that the therapeutic properties of propolis are directly related to the quantity of total phenols in the sample composition, this data suggest that propolis from Paraíba and Minas Gerais would be of more therapeutic value than the propolis samples from the northern coastal region of the state of Bahia.

The total phenols obtained by RIGHI (2008) for the propolis sample from Bahia (25.867 ± 0.045 mg GAE/g, Cabo Verde, BA) and the samples from other regions of Brazil are congruent with the values found in this study. However, the value of the propolis from Alagoas state the author found (41.631 ± 0.056 mg GAE/g, Maceió – AL) is superior to those found for the propolis samples from the nearby areas in Bahia analyzed in this study. This fact can confirm that propolis from Alagoas has more total phenols than the propolis from Bahia.

CASTRO et al. (2007) dealt with propolis samples collected at the municipality of Entre Rios in the northeastern region of Bahia, and they obtained the following values of the total phenol contents in six months of sampling (mg of gallic acid/gram of sample \pm standard deviation): 22.26 \pm 0.01 mg GAE/g (April), 22.03 \pm 0.01 mg GAE/g (May), 30.00 \pm 0.00 mg GAE/g (June), 39.38 \pm 0.01 mg GAE/g (July), 32.16 \pm 0.01 mg GAE/g (September) and 32.13 \pm 0.00 (October). Data we obtained for the sample from the municipality of Entre Rios is compatible with the data found by CASTRO et al. (2007) in the months of September and October, that is, a value close to 32 mg GAE/g. Besides, the values found here for the propolis samples from the other municipalities of the northern coastal region of the state of Bahia are quite close to the values found by CASTRO et al. (2007).



Figure 1. The northern coastal region of Bahia State. The municipalities sampled are indicated in gray. Adapted from SEI (2002)

Table 1. Absorbance and phenolic compounds content of propolis samples from the northern coastal region of Bahia.

| Samples | Municipalities | Total phenolic compounds (mg GAE/g) |
|---------|----------------|---|
| ALA1 | Alagoinhas | 17.24±0.58 |
| ALA2 | Alagoinhas | 19.02±0.77 |
| ALA3 | Alagoinhas | 19.08±0.83 |
| ALA4 | Alagoinhas | 18.66±0.60 |
| ALA5 | Alagoinhas | 9.43±1.18 |
| ARA1 | Araçás | 19.99±1.32 |
| ARM1 | Aramari | 14.90±0.76 |
| CAT1 | Catu | 14.14±1.08 |
| ENR1 | Entre Rios | 32.80±2.41 |
| ENR2 | Entre Rios | 31.61±2.18 |
| INB1 | Inhambupe | 23.37±0.69 |
| INB2 | Inhambupe | 12.18 ±0.30 |
| INB3 | Inhambupe | 36.78±1.52 |
| INB4 | Inhambupe | 7.68± 2.58. |
| ITA1 | Itapicuru | 12.22±0.44 |
| ITA2 | Itapicuru | 18.43±0.78 |
| RIR1 | Rio Real | 13.19 ± 0.85 |
| SAD1 | Sátiro Dias | 17.38±0.50 |
| SAD2 | Sátiro Dias | 21.64±1.04 |

Conclusions

The vast majority of the 19 propolis samples from the northern coastal region of Bahia analyzed displayed lower phenolic compound contents than propolis samples from other regions of Brazil, such as Minas Gerais, São Paulo and Alagoas. Since propolis' biological properties are directly associated to phenolic compounds, it could be argued that Bahia's propolis is inferior to the propolis of other regions, if only this characteristic is taken into account. However, some of the propolis samples investigated, for instance the sample from the municipality of Inhambupe, displayed phenolic compound contents comparable to those found in the propolis from other regions of Brazil. Therefore it is not possible to generalize and declare that the propolis from the northern coastal region of Bahia is characterized by an amount of phenolic compounds lower than those found in the other regions.

From the results obtained it can be observed that propolis extracts from the same region can display different concentrations, which can interfere with the absorbency and consequently in the total phenolic compound contents. The composition of the flora characteristic of each region, the genetics of the queens and the period in which the propolis is collected might all be factors responsible for the observed variation.

The phenolic contents found in the propolis samples collected in the northern coastal region of Bahia comply with the requirements of Brazilian legislation. Investigations such as this are important to certify the quality of the propolis produced in the state, since propolis quality is directly related to the total phenolic compound contents.

References

ADELMANN, J. **Própolis: Variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana, antioxidante**. Paraná, 2005, 186p. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná (UFPR).

AGUIAR, C.L.; ALENCAR, S.M.; PAREDES-GUZMÁN, J.F.; KOO, M.H.; PARK, Y.K. Caracterização físico-química das própolis originárias da região de Mata Atlântica do Estado de Alagoas. **Apacame**. v.72, n.15, p.21, 2003.

BURIOL, L.; FINGER, D.; SCHMIDT, E.M.; SANTOS, J.M.T.; ROSA, M.R.; QUINÁIA, S.P.; TORRES, Y.R.; SANTA, H.S.D.; PESSOA, C.; MORAES, M.O.; COSTA-LOTUFO, J.V.; FERREIRA, P.M.; SAWAYA A.C.H.F.; EBERLIN, M.N. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**. v.32, n.2, p. 296-302, 2009

CABRAL, I.S.R.; OLDONI, T.L.C.; PRADO, A.; BEZERRA, R.M.N.; ALENCAR, S.M. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**. v.32, n.6, p.1523-1527, 2009

CABRAL, I.S.R. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antibacteriana da própolis vermelha brasileira**. Piracicaba, 2008, 94p. Dissertação (Mestre em Ciência), Escola Superior de Agricultura “Luis Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP).

CASTRO, M.L.; CURY, J.A.; ROSALEN, P.L. Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. **Química Nova**. v.30, n.7, p.1512-1516, 2007

CHANG, R. **Estudo químico de própolis do estado de Minas Gerais**. Minas Gerais, 2005, 126p. Tese (Doutor em Ciência), Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

GÓMEZ-CARAVACA, A.M.; GÓMEZ-ROMERO, M.; ARRÁEZ-RÓMAN, D.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. J. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.41, n.2, p.1220-1234, 2006

MARTINEZ, C.R. **Caracterização química e citotoxicidade da própolis de *Apis mellifera* sobre fibroblastos de mucosa bucal humana: estudo in vitro**. Mato Grosso do Sul, 2011, 141p. Dissertação (Mestre em Saúde e Desenvolvimento), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

NASCIMENTO, E.A.; MORAIS, S.A.L.; PILÓ-VELOSO, D.; CHANG, R.; REIS, D.C. Atividade antioxidante de própolis verde, marrom e avermelhada de regiões que contêm alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*). **Apacame**. v.92, n.1, p.1-4, 2007

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J.A.S.; ALCICI, N.M.F. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.18, n.3, p.313-318, 1998

RIGHI, A.A. **Perfil químico de amostras de própolis brasileira**. São Paulo, 2008, 102p. Dissertação (Mestre em Biociência), Instituto de Biociência, Universidade de São Paulo (USP).

SEI. Superintendência de estudos econômicos e sociais da Bahia (SEI). **Regiões econômicas do estado da Bahia**. 2002. Disponível em: . (Accessed: June 27th 2011).

SILVA, K.B.; RODRIGUES, K.C.; TRINDADE, J.L.F. Própolis, sua composição e benefícios. In: Resumos da VI Semana de Tecnologia em Alimentos, 2008, Paraná. **Anais Paraná**, 2008.

SILVA, A.F. **Própolis: caracterização físico-química, atividade antimicrobiana e antioxidante**. Viçosa, 2009, 126p. Tese (Doutor em Scientiae), Universidade Federal de Viçosa (UFV).

SOUSA, J.PB.; FURTADO, N.A.J.C.; JORGE, R.; SOARES, A.E.E.; BASTOS, J.K. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microregiões de Franca (SP) e Passos (MG). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v.17, n.1, p.85-93, 2007

TEI,A.N.A.; PARK, Y.K; FORT, P.; MORAES, C.M; ISHIYAMA, K. Quantificação de cera, compostos fenólicos totais e determinação da atividade anti-radical da própolis bruta. In: Resumo XVI Congresso Interno - Iniciação Científica - Unicamp, 2008. São Paulo, **Anais São Paulo**, 2008.

CAPITULO 2

Capítulo 2

*Perfil palinológico da própolis produzida no litoral norte do estado da Bahia**

*Manuscrito a ser submetido na revista Grana

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo traçar o perfil palinológico de amostras de própolis produzida no litoral norte do estado da Bahia. Essas amostras foram processadas utilizando a técnica da acetólise com as modificações sugeridas para própolis. Foram encontrados 59 tipos polínicos pertencentes a 19 famílias e 36 gêneros botânicos. A família Fabaceae foi a mais representativa no estudo com nove tipos polínicos, seguida da família Asteraceae com sete tipos. Os tipos *Mikania* e *Mimosa pudica* estiveram presentes em todas as amostras analisadas. Os tipos *Mimosa pudica* e *Eucalyptus* apresentaram frequência de ocorrência superior a 50% em pelo menos uma amostra. Um terço dos tipos polínicos com frequência superior a 50% pertencem à família Fabaceae. O município de Entre Rios apresentou a amostra com o maior número de tipos polínicos em comum entre as amostras analisadas (16 tipos). Entretanto, o município com maior quantidade de tipos é Itapicuru com um total de 40 tipos polínicos. Houve a ocorrência nas amostras de tipos polínicos de espécies de plantas resinosas (*Schinus*), nectaríferas (*Borreria*) e poliníferas (*Cecropia*). Os municípios de Entre Rios e Itapicuru apresentaram o maior índice de similaridade polínica (72%).

Palavras-chave: Melissopalínologia, produtos apícolas, similaridade florística

Abstract

This work aims to profile pollen propolis samples from the North Coastline region, Bahia State. Fifty-nine pollen types belonging to 19 plant families and 36 genera were found. Fabaceae was the most representative among the families (nine pollen types), followed by Asteraceae (seven). *Mikania* and *Mimosa pudica* pollen types were present in all analyzed samples. *Mimosa pudica* and *Eucalyptus* presented frequency of occurrence greater than 50% in at least one sample. One third of the pollen types with a frequency exceeding 50% belong to the family Fabaceae. Entre Rios was the municipality whose propolis samples presented higher number of the same pollen types among all analyzed samples in one municipality (16 pollen types). However, the municipality with the largest number of types is Itapicuru with a total of 40 pollen types. Pollen types from resinous (*Schinus*), nectariferous (*Borreria*) and polliniferous (*Cecropia*) plant species occurred in the samples. Entre Rios and Itapicuru municipalities presented the higher pollen similarity between their propolis samples (72%).

Key words: Melissopalynology, bee products, floristic similarity.

Introdução

A própolis é um produto apícola originado a partir da mistura de substâncias resinosas coletadas de estruturas vegetais, com a cera e enzimas salivares das abelhas. A própolis contém em sua composição: resina (50-60%), cera (30-40%), óleos essenciais (5-10%), grãos de pólen (5%), microelementos (alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês) e vitaminas (B1, B2, B6, C e E) (Ghisalberti, 1979; Alencar, 2002).

A própolis mais conhecida é a produzida pela abelha *Apis mellifera* L (Apidae). A função desse produto é de proteção, atuando como isolante térmico e impedindo a entrada de invasores na colmeia (Masson, 1994; Barth & Luz, 2003; Teixeira et al., 2003; Park et al., 2005; Righi, 2008; Freitas et al., 2010).

A própolis é amplamente utilizada na medicina popular e tem um enorme destaque nas indústrias de cosméticos, farmacêuticas e alimentícias devido às inúmeras atividades biológicas a ela atribuídas, tais como: antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatória, imunomodulatória, cicatrizante, anestésica, e anticariogênica (Ghisalberti, 1979; Marcucci & Bankova 1999, Alencar, 2002; Teixeira et al., 2003; Park et al., 2005). No Brasil, há uma grande variedade de tipos de própolis, sendo o terceiro maior produtor mundial. Devido à grande diversidade da flora brasileira, é necessário expandir os conhecimentos científicos acerca da origem botânica e geográfica do produto (Teixeira et al., 2003; Barth, 2004). A enorme disponibilidade dos derivados apícolas brasileiros no mercado e o crescente interesse internacional é um incentivo para que ocorra o aumento das pesquisas de caracterização palinológica da própolis produzida no país, de forma a ampliar o controle da qualidade deste produto (Luz et al., 2007).

Na Bahia, apesar da diversidade da flora e do seu elevado potencial apícola existem poucas informações sobre as plantas de importância na elaboração da própolis (Moreti et al., 2000). O espectro polínico presente na própolis contém os grãos de pólen trazidos pelas abelhas, e também os depositados pelo vento (os anemófilos) que aderiram à resina. Sendo assim, a análise palinológica é um instrumento precioso para a verificação e rotulagem das amostras desse produto apícola, uma vez que permite determinar sua origem geográfica, fazendo a distinção entre as diferentes regiões produtoras e a estação do ano em que foram elaboradas (Barth, 1998; Barth et al., 1999).

O interesse na determinação da origem botânica dos produtos apícolas e suas vantagens comerciais em relação à qualidade dos mesmos têm na palinologia uma ferramenta importante. Pouco se sabe sobre as espécies vegetais utilizadas pelas abelhas no estado da Bahia (Oliveira, 2009). O conhecimento sobre a flora apícola é necessário para a conservação dessas plantas de forma a promover uma apicultura sustentável (Sodré et al., 2008).

Tendo em vista o crescimento econômico e das pesquisas científicas sobre a própolis no país e a pouca informação sobre o produto na Bahia, este trabalho tem como objetivo traçar o perfil palinológico da própolis produzida no território do litoral norte deste Estado. Caracterizar as amostras geograficamente através do conhecimento da morfologia polínica, comparando-as de acordo com a composição dos tipos polínicos, fornecendo dessa forma subsídios para a certificação da própolis da região, de forma a garantir uma maior credibilidade ao produto.

Materiais e métodos

Origem das amostras

Foram analisadas 22 amostras de própolis bruta oriundas de nove municípios baianos do território do Litoral Norte do Estado (Figura 1). Tais amostras foram doadas pela Associação de Apicultores da Bahia, por intermédio da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), sendo coletadas em 2010 e 2011.

Processamento palinológico

As amostras de própolis foram dissolvidas em álcool etílico 95% e o sedimento obtido, passado em hidróxido de potássio (10%) a quente; o resíduo foi desidratado com ácido acético glacial e finalmente submetido à acetólise de Erdtman (1960). Após sucessivas centrifugações, os grãos de pólen residuais foram montados entre lâmina e lamínula em gelatina glicerinada. As preparações foram analisadas em microscópio óptico, sendo os grãos de pólen contados para estabelecimento do censo polínico. Contou-se sempre um mínimo de 500 grãos de pólen por amostra de própolis. O estabelecimento e identificação da afinidade botânica dos tipos polínicos foram feitas de acordo com as indicações Santos (2011).

Para o estabelecimento da frequência de distribuição dos tipos polínicos (táxons) entre as amostras, foi observada a quantidade de amostras que um dado tipo polínico ocorre. Conforme Jones & Bryant Jr. (1996), as amostras foram categorizadas nas seguintes classes de frequência: muito frequente- >50%; frequente- 20-50%; pouco frequente – 10-20%, e raro - <10%.

Os grãos de pólen foram identificados a partir das lâminas depositadas na palinoteca do Laboratório de Micromorfologia Vegetal (UEFS), na qual também foram depositadas todas as lâminas preparadas. Também foram utilizados Atlas e outros trabalhos para auxílio na identificação da origem botânica dos tipos polínicos. Todos os tipos polínicos foram fotografados em microscópio óptico.

Análise dos resultados

Para análise da similaridade polínica entre as amostras foi confeccionado um dendograma utilizando o software PAST - Palaeontological Statistics, ver. 1.89 (Hammer et al., 2001).

O coeficiente de similaridade utilizado foi o de Jaccard, por não considerar as ausências compartilhadas como evidência de similaridade. Sendo assim, foram considerados na análise apenas os tipos polínicos identificados.

Resultados

Nas amostras estudadas de própolis dos nove municípios do litoral norte do estado da Bahia foram encontrados 59 tipos polínicos. Destes, 49 foram devidamente identificados e pertencem a 19 famílias e 36 gêneros botânicos (Tabela 1). A família Fabaceae obteve destaque com nove tipos polínicos encontrados, seguida da família Asteraceae com sete. As famílias Rubiaceae e Myrtaceae também tiveram grande representatividade no estudo, sendo identificados seis e cinco tipos polínicos, respectivamente. O número de tipos polínicos por amostra variou de 11 nas amostras CA1 a 30 na amostra ER2 (Tabela 1).

Algumas amostras apresentaram tipos polínicos os quais não foram identificados, porém esses ocorreram em baixas frequências; entre esses tipos polínicos, o que apresentou a maior frequência foi Indeterminado I com 6,2% na amostras AR1. A amostra que apresentou o maior número de tipos polínicos não identificados foi IT2, com dois tipos (Tabela 1).

Entre as 22 amostras estudadas, apenas dois tipos polínicos estiveram presentes no espectro polínicos de todas elas, com 100% de frequência (Figura 2): *Mikania*, Asteraceae (Figura 4D), e *Mimosa pudica*, Fabaceae (Figura 4H). Outros 10 tipos polínicos apresentaram frequência entre as amostras estudadas superior a 50% (Figura 2). Nesse grupo de tipos polínicos mais frequentes, a família Fabaceae apresenta-se com um terço dos tipos, com *Mimosa tenuiflora* (Figura 4I), *Senna* I e *Chamaecrista*, além de *M. pudica* citado anteriormente.

A maior frequência de ocorrência de um tipo polínico numa amostra foi de 78,8% do tipo *M. pudica* na amostra IT4 (Tabela 2). Apenas dois tipos polínicos apresentaram frequência de ocorrência superior a 50% em pelo menos uma amostra: *M. pudica* (AL3, IN2, IN3, IT1, IT4, SD1 e SD2) e *Eucalyptus* (AL1, AL2, AR1, AM1, ER2 e IN4).

O município de Entre Rios foi o que apresentou própolis com o maior número de tipos polínicos em comum entre as amostras analisadas de um mesmo município, ele apresentou uma assembleia polínica com 16 tipos polínicos (Tabela 2), enquanto os demais apresentaram um número inferior a este: Alagoinhas (7), Inhambupe (6) e Sátiro Dias (11). Nesse levantamento, consideraram-se apenas os tipos polínicos identificados em menos ao nível de família.

A similaridade polínica entre os grupos de amostras por município (Figura 3) foi c. de 30%; o município de Catu foi o que mostrou espectro polínico mais diferenciado em relação às demais que formaram grupos entre si. Mesmo distantes geograficamente, os municípios de Entre Rios e Itapicuru tiveram amostras de própolis com maior similaridade polínica (72%). As amostras desses dois municípios apresentaram como tipos polínicos comuns a ambos: *Mikania*, *Mimosa pudica*, *Mimosa tenuiflora*, *Mitracarpus longicalyx* (Figura 4R), *Myrcia* I (Figura 4M) e *Syagrus* (Figura 4B).

Os municípios com maior número de amostras analisadas, Alagoinhas (5), Inhambupe (4), Itapicuru (4) e Entre Rios (3), na análise de suas amostras formaram um grupo com c. 50% de similaridade polínica (Figura 3).

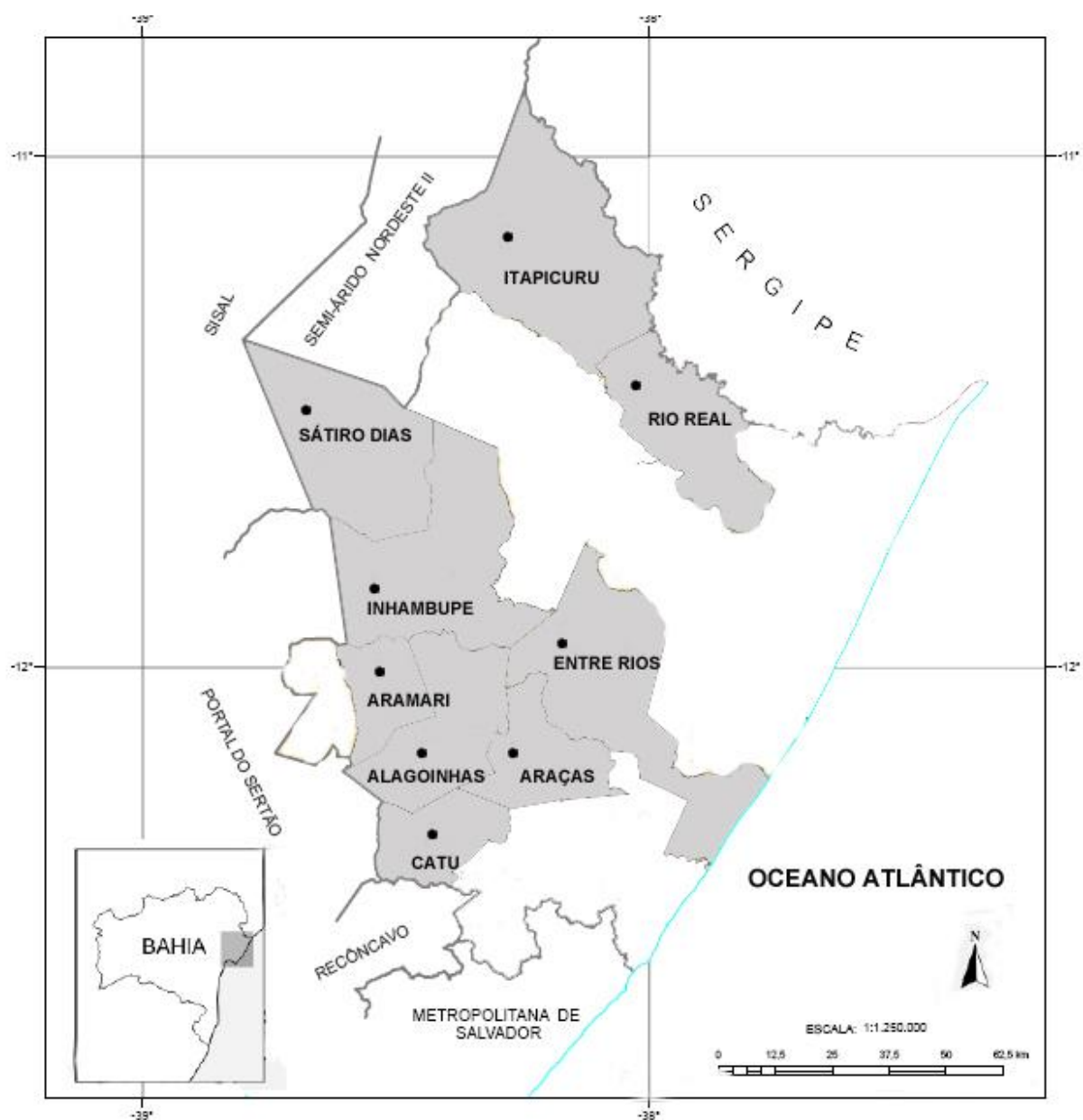


Figura 1. Território do Litoral Norte do estado da Bahia, destacando os municípios (cinza) onde as amostras de própolis foram coletadas (Adaptado de SEI, 2002).

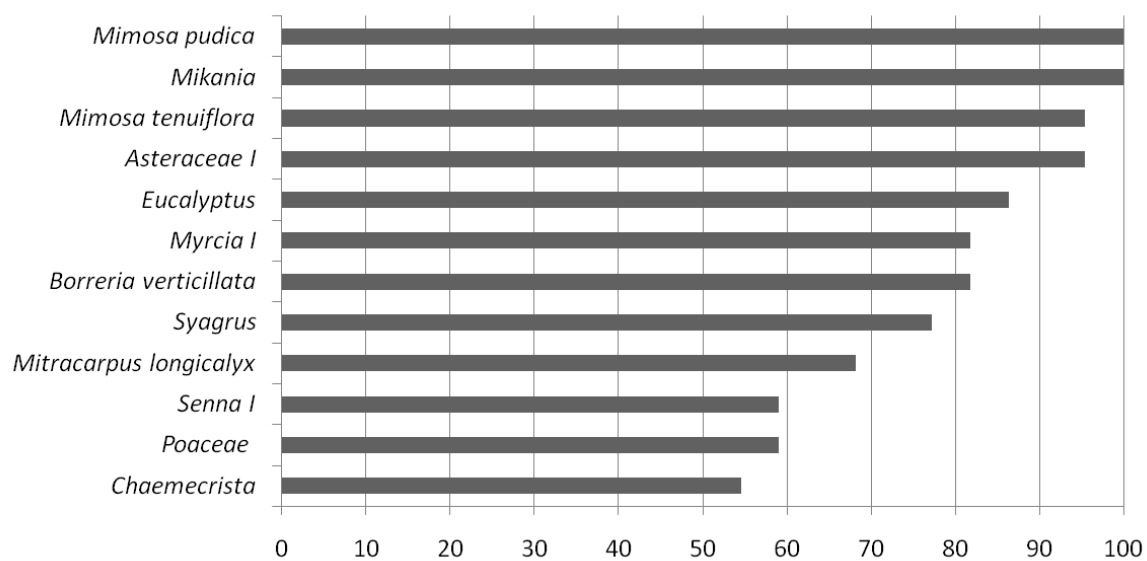


Figura 2. Tipos polínicos presentes em mais de 50% das amostras analisadas da própolis produzida no território do Litoral Norte do estado da Bahia.

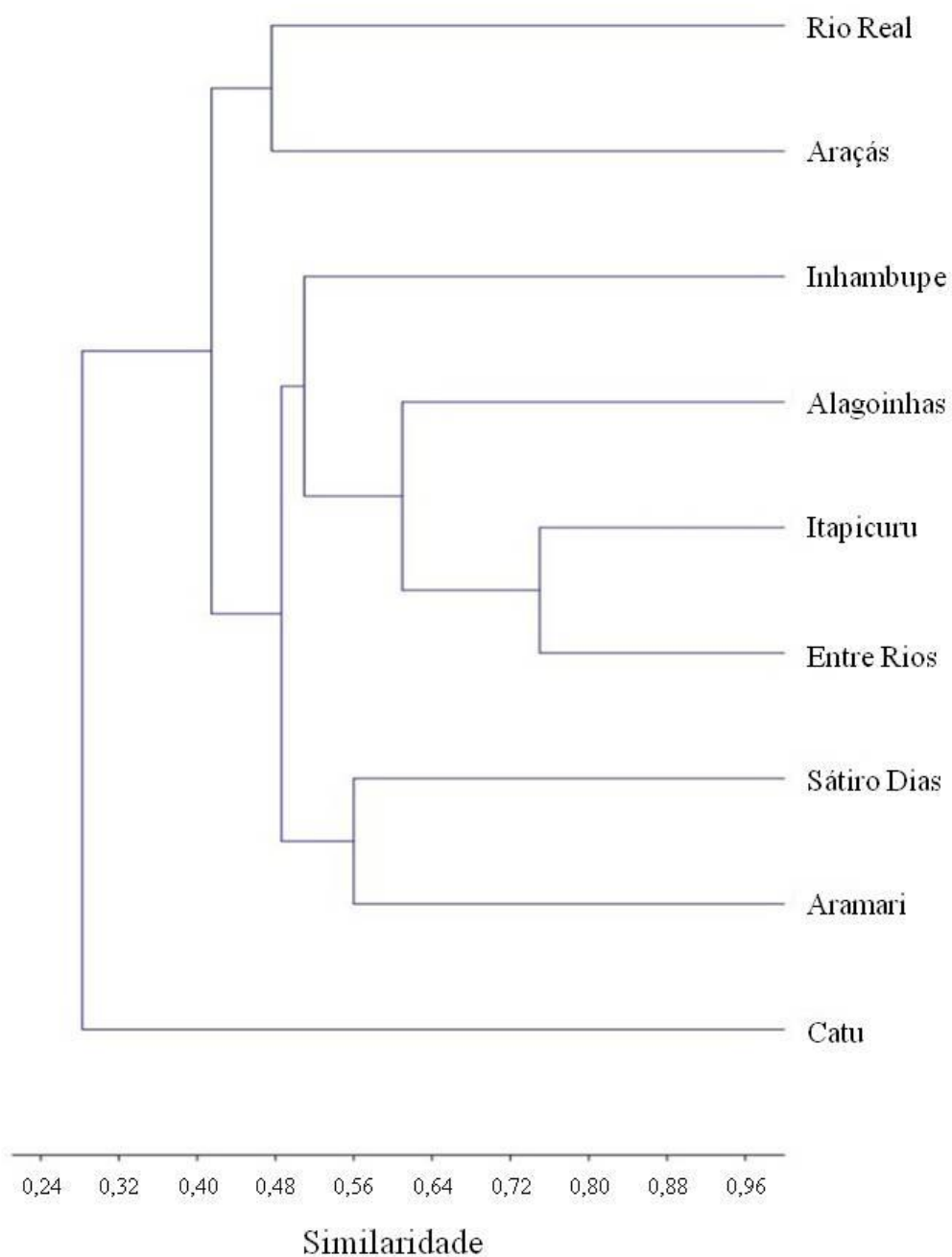
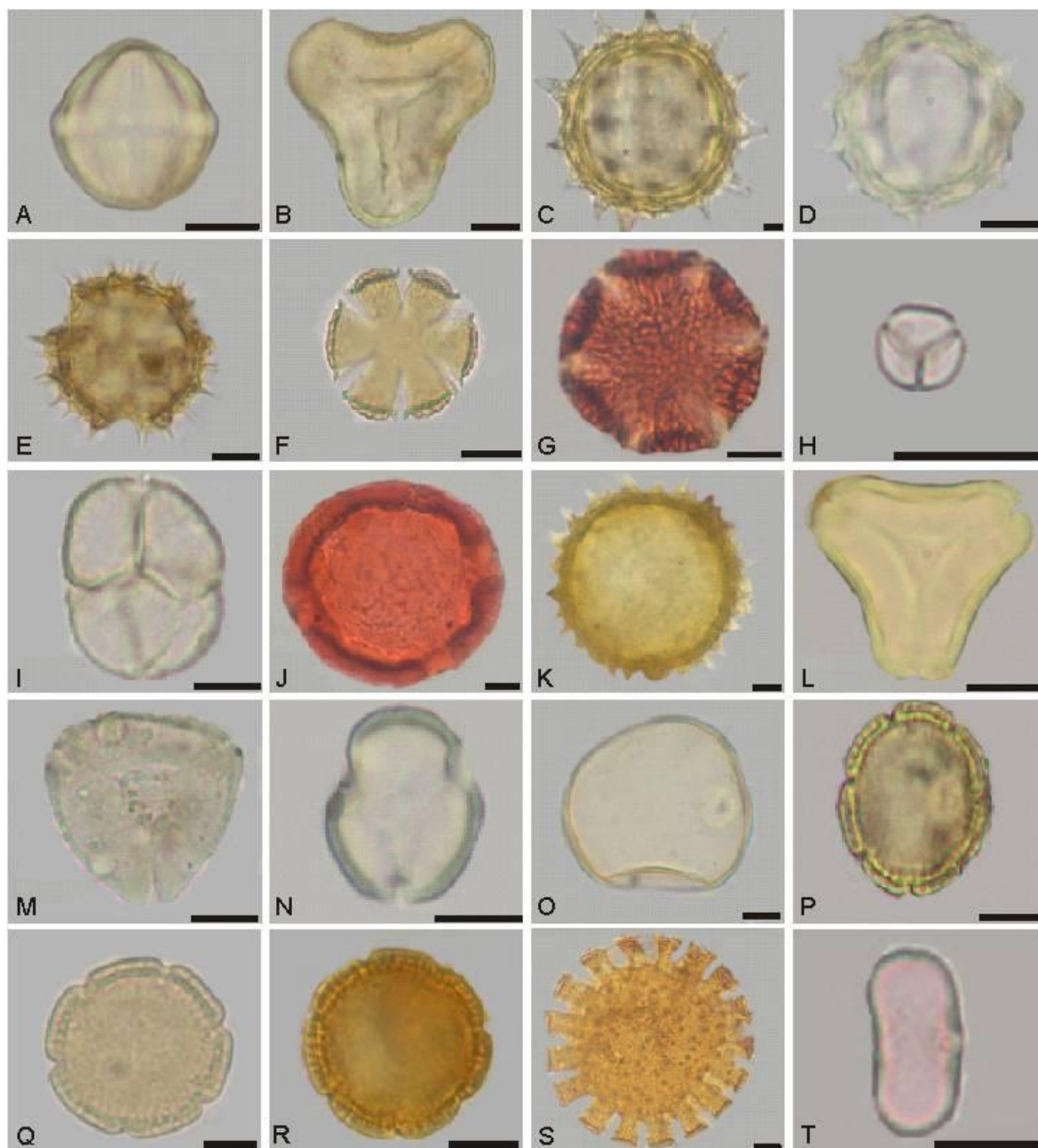


Figura 3. Dendrograma de similaridade (coeficiente de Jaccard) entre as amostras de própolis produzida em municípios do território do Litoral Norte do estado da Bahia.



Figuras 4. Tipos polínicos encontrados nas amostras de própolis estudadas do território do Litoral Norte, estado da Bahia, Brasil. A. Anarcadiaceae, *Schinus*. B. Arecaceae, *Syagrus*. C-E. Asteraceae: C. *Eupatorium* I. D. *Mikania*, E. *Venonia* I. F-G. Lamiaceae: F. *Hyptis*, G. *Salvia* H-I. Fabaceae: H. *Mimosa pudica*, I. *Mimosa tenuiflora* J. Malpighiaceae, *Banisteriopsis* K. Malvaceae, *Sida* L-M. Myrtaceae: L. *Eucalyptus* M. *Myrcia* I. N. Plantaginaceae, *Angelonia* O. Poaceae. P-S. Rubiaceae: P. *Borreria verticillata*, Q. *Borreria* I. R. *Mitracarpus longicalyx*, S. *Richardia*. T. Urticaceae, *Cecropia*. (Barra = 10 μm)

| | Amostras | AL1 | AL2 | AL3 | AL4 | AL5 | AR1 | AM1 | CA1 | ER1 | ER2 | ER3 | IN1 | IN2 | IN3 | IN4 | IT1 | IT2 | IT3 | IT4 | RR1 | SD1 | SD2 |
|--|----------|-------|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-----|------|-------|------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|------|-------|-----|
| Tipos polínicos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Borreria verticillata</i> | | | | 0,4 | 0,2 | 0,6 | 1,6 | 5,2 | | 10,0 | 4,6 | 13,0 | 9,8 | 0,5 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 6,6 | 0,6 | | 18,2 | 1,2 | 2,4 |
| <i>Borreria I</i> | 1,2 | | | | | | | | | 6,6 | 2,0 | | | | | | | 2,2 | 30,6 | 0,4 | | | |
| <i>Borreria II</i> | | | | | | | | | 0,8 | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Diodia radula</i> | | | | 0,4 | | | | 0,4 | | | | | | | | | | 0,8 | | | | 0,4 | 0,6 |
| <i>Mitracarpus longicalyx</i> | 0,6 | 0,4 | 3,6 | 0,4 | 0,6 | 1,2 | | | | 2,2 | 0,6 | 3,0 | 4,0 | 0,4 | | 0,8 | 0,8 | 4,0 | 1,6 | 1,4 | 6,0 | | |
| <i>Richardia</i> | | | | | | 0,2 | | 0,2 | | 0,6 | 1,0 | | | 0,5 | | | | 2,4 | 4,2 | | | 0,2 | |
| Sapindaceae | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Serjania I</i> | | | | | | | 0,4 | | | | 0,6 | 2,2 | | | | | 0,2 | | 2,0 | 0,2 | | | |
| <i>Serjania II</i> | | | | | | | | | | | 0,2 | | | | | | | | | | | | |
| <i>Serjania III</i> | | | | 0,2 | 0,6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tuneraceae | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Turnera</i> | | | | | | | | 1,0 | | | | | 1,6 | | | | | | | | | | |
| Urticaceae | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Cecropia</i> | | | | | | 1,0 | | | 1,6 | 0,4 | 0,4 | 3,6 | | | | | 0,8 | | 0,6 | 1,4 | | | |
| Verbenaceae | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Lippia</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,2 |
| Tipos polínicos não identificados (%/no.) | 0,4/1 | 0,4/2 | | | | 0,2/1 | 6,2/1 | 0,2/1 | | | 0,2/1 | | | 0,4/1 | 0,2/1 | 0,2/1 | 0,2/1 | 0,8/2 | 0,2/1 | | | 0,4/1 | |
| Total de tipos polínicos (no.) | 15 | 17 | 12 | 17 | 20 | 15 | 20 | 11 | 24 | 30 | 26 | 19 | 14 | 14 | 13 | 12 | 24 | 27 | 16 | 18 | 18 | 16 | |

Tabela 2. Comparação entre o espectro polínico das amostras de própolis analisadas de municípios do território do litoral norte do estado da Bahia.

| Municípios Parâmetros | Alagoinhas | Araçás | Aramari | Catu | Entre Rios | Inhambupe | Itapicuru | Rio Real | Sátiro Dias |
|---|--|-------------------|-------------------|--------------------------------|--|--|--|--------------------------------|--|
| Amostras | 5 | 1 | 1 | 1 | 3 | 4 | 4 | 1 | 2 |
| Tipos polínicos (identif./ não identif.) | 30/5 | 13/1 | 19/1 | 13/0 | 36/1 | 25/4 | 34/6 | 19/0 | 20/2 |
| Tipos comuns entre as amostras do município | Asteraceae I <i>Chaemecrista</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Mikania</i> , <i>Mimosa</i> <i>tenuiflora</i> , <i>Mimosa pudica</i> e <i>Mitracarpus</i> <i>longicalyx</i> | --- | --- | --- | Asteraceae I, <i>Borreria</i> <i>verticillata</i> , <i>Cecropia</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Hyptis</i> , <i>Mikania</i> , <i>Mimosa pudica</i> , <i>Mimosa</i> <i>tenuiflora</i> , <i>Mitracarpus</i> <i>longicalyx</i> , <i>Myrcia</i> I, <i>Myrcia</i> II, Poaceae, <i>Schinus</i> , <i>Sida</i> , <i>Syagrus</i> e <i>Venonia</i> I | <i>Alternanthera</i> <i>ramosissima</i> , Asteraceae I, <i>Borreria</i> <i>verticillata</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Mikania</i> , <i>Mimosa</i> <i>pudica</i> e <i>Mimosa</i> <i>tenuiflora</i> | <i>Mikania</i> , <i>Mimosa</i> <i>pudica</i> , <i>Mimosa</i> <i>tenuiflora</i> , <i>Mitracarpus</i> <i>longicalyx</i> , <i>Myrcia</i> I e <i>Syagrus</i> | --- | <i>Alternanthera</i> <i>ramosissima</i> , Asteraceae I, <i>Borreria</i> <i>verticillata</i> , <i>Diodia radula</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Eugenia</i> I, <i>Mikania</i> , <i>Mimosa</i> <i>pudica</i> , <i>Mimosa</i> <i>tenuiflora</i> , <i>Myrcia</i> I e Poaceae. |
| Tipos com frequência ≥ 50% | <i>Eucalyptus</i> e <i>Mimosa pudica</i> | <i>Eucalyptus</i> | <i>Eucalyptus</i> | <i>Mimosa</i> <i>pudica</i> | <i>Eucalyptus</i> | <i>Eucalyptus</i> | <i>Mimosa pudica</i> | <i>Mimosa</i> <i>pudica</i> | <i>Eucalyptus</i> |

Discussão

A análise polínica das amostras de própolis de nove municípios do Litoral Norte do estado da Bahia apresentou uma grande diversidade de tipos polínicos, a maioria pertencente ao bioma Mata Atlântica, como os tipos *Acacia*, *Hyptis* e *Mimosa pudica*, os quais são característicos dessa vegetação (Freitas et al., 2010). A maior parte da vegetação de Mata Atlântica do litoral norte da Bahia fora devastada para implantação dos empreendimentos hoteleiros e para o cultivo de monoculturas (p ex. cana-de-açúcar e eucalipto). Além disso, também foram identificados nesse estudo tipos polínicos pertencentes a espécies de plantas resinosas, nectaríferas e poliníferas.

As vinte e duas amostras da própolis analisadas apresentaram um total de 59 tipos polínicos estando presentes em mais de 50% dessas amostras os tipos *Eucalyptus* e *Mimosa pudica*. Luz et al. (2009) realizaram análise palinológica em amostras de própolis vermelha, sendo três amostras do estado da Bahia e encontraram 72 tipos polínicos, sendo os tipos *Mimosa scabrella*, *Mimosa verrucosa*, *Mimosa caesalpiniaefolia*, *Cocos nucifera* e *Cecropia* os mais frequentes nesse estudo. Dos tipos encontrados por Luz et al. (2009), apenas a *Cecropia* foi identificada nas amostras da própolis do litoral norte do estado, estando presente em 26% das amostras, em baixas frequências. É um tipo polínico considerado anemófilo que representa plantas que são predominantes em áreas de vegetação degradada de mata atlântica (Freitas et al., 2010). Barth (1998) e Barth et al. (1999) analisaram amostras da própolis do Sul e Sudeste brasileiro identificando 31 e 34 tipos polínicos, respectivamente, com os tipos *Eupatorium* e *Eucalyptus* como sendo os mais representativos nesses estudos(>50%). Enquanto Freitas et al. (2010) analisaram 24 amostras da própolis produzidas no estado do Rio de Janeiro e identificaram 45 tipos polínicos e o tipo *Eucalyptus* esteve presente em mais de 50% das amostras analisadas.

O município de Alagoinhas mesmo com o maior número de amostras não foi o município com o maior número de tipos polínicos encontrados. As amostras pertencentes ao município de Itapicuru se destacaram no estudo com um total de 40 tipos polínicos, nelas o tipo *M. pudica* presente em mais de 50% das amostras. Os municípios de Catu e Araçás, além de ambos possuírem apenas uma amostra no estudo, foram os com menor número de tipos polínicos encontrados, 13 e 14, respectivamente. Na amostra de Catu, o tipo polínico *M. pudica* foi o de maior ocorrência, e na própolis de Araçás o tipo

Eucalyptus teve maior destaque. Freitas et al. (2011) realizaram análise palinológica de 28 amostras de própolis, sendo uma das amostras do município de Irecê (Bahia), encontrando nela sete tipos polínicos, e o tipo polínico da família Fabaceae, *Mimosa verrucosa*, foi o mais representativo.

Recentes pesquisas sobre a origem botânica da “própolis vermelha” indicam o gênero *Schinus* como fornecedor da resina que dar origem a referida própolis (Sawaya et al., 2006). Luz et al. (2007) analisaram a origem palinológica da própolis vermelha produzida em três estados brasileiros, incluindo a Bahia, e o tipo *Schinus* ocorreu em baixa frequência em todas as amostras. No presente estudo, esse tipo polínico também apresentou uma baixa frequência ocorrendo apenas em c. de 36% das amostras. A espécie *Schinus terebenthifolius* Raddi (“aroeira- vermelha”) da família Anacardiaceae é nativa da região tropical das Américas. No Brasil é encontrada em várias formações vegetacionais de Pernambuco ao Rio Grande do Sul. Tem uma enorme importância comercial devido às propriedades medicinais e fitoquímicas. Além disso, é usada em programas de reflorestamento ambiental na reposição de matas ciliares (Lenzi & Orth, 2004). Levantamentos florísticos realizados no litoral norte da Bahia identificaram a espécie *S. terebenthifolius* como pertencente à flora da região (Silva & Menezes, 2007).

As espécies da família Asteraceae são visitadas pelas abelhas *Apis mellifera* para fornecimento de pólen e néctar (Freitas et al., 2010). Contudo, algumas espécies dessa família são também fornecedoras de resina. A própolis conhecida no sudeste do Brasil como “própolis verde” é oriunda, de acordo com Bastos et al. (2000) e Bastos (2001), da resina da espécie *Baccharis dracunculifolia* DC. (“Alecrim-do-campo”) pertencente à família Asteraceae. Grãos de pólen dessa família ocorreram em todas as amostras analisadas, é necessário um conhecimento detalhado da flora da região para uma identificação mais específica dos tipos encontrados.

Além da presença de espécies fornecedoras de resina, foram encontradas no espectro polínico espécies tidas como nectaríferas e poliníferas. O gênero *Borreria* (Rubiaceae), *Citrus* (Rutaceae), *Salvia* e *Hpytis* (Lamiaceae) são exemplos de grupos vegetais que produzem mais néctar do que pólen enquadrando-os como nectaríferos, geralmente a porcentagem desses tipos é baixa nas análises. Enquanto que os tipos pertencentes aos gêneros *Mimosa*, *Eucalyptu* e *Cecropia* e à família Poaceae são

relacionados a táxons poliníferos, produzem muito pólen, ocorrendo com alta frequência nas análises (Barth, 2005).

Geralmente a presença do pólen de *Citrus* é devido à ocorrência das áreas de cultivo de frutas cítricas na região de forrageamento da abelha. Freitas et al. (2011) encontraram a presença desse tipo nas amostras da própolis do Rio de Janeiro, entretanto na amostra da Bahia analisada por esses autores, eles não identificaram o referido tipo. Nas amostras de própolis do litoral norte da Bahia também não houve a ocorrência desse tipo polínico.

Em análise realizada por Freitas et al. (2011) na amostra da própolis do estado da Bahia houve a ocorrência da *B. verticillata*, em baixa frequência, e o tipo *Borreria densiflora* ocorreu em alta frequência na amostra do Rio Grande do Norte. O tipo *B. verticillata* e o tipo *B. densiflora* foram identificados também, em baixa frequência, nas amostras da própolis do estado do Rio de Janeiro (Freitas et al., 2010). Barth & Luz (2009) identificaram pólen do tipo *Borreria* em todas as amostras da própolis vermelha do estado da Bahia, Alagoas e Paraíba. A espécie *B. verticillata* ocorreu, baixa frequência, em dezoito amostras e mais duas variações desse gênero foram identificadas no estudo comprovando a presença desse tipo polínico também nas amostras da própolis do litoral norte do estado.

O tipo *Hyptis* foi encontrado em c. de 45% das amostras analisadas. Esse tipo foi identificado por Barth & Luz (2009) em uma das suas amostras de própolis do estado da Bahia. Já Freitas et al. (2011) não encontrou esse referido tipo em sua amostra da própolis baiana. Em c. de 13% das amostras ocorreu o tipo *Salvia*. Contudo, nas análises das amostras de própolis baiana de Freitas et al. (2011) e Barth & Luz (2009) não houve a ocorrência do tipo.

Grãos de pólen do gênero *Mimosa* ocorrem em alta frequência em amostras da própolis brasileira. A *Mimosa verrucosa* foi o tipo mais representativo na análise realizada por Freitas et al. (2011) em uma amostra da própolis proveniente do estado da Bahia. Entretanto a análise palinológica realizada por Barth & Luz (2009) em própolis vermelha produzida no Estado não encontrou a presença de nenhum tipo pertencente a esse gênero.

O tipo polínico *M. pudica* foi bastante representativo no presente estudo sendo identificado em todas as amostras analisadas. Podendo dessa forma então ser considerado como uma das possíveis fontes da própolis do litoral norte do estado da Bahia. *Mimosa*

pudica L. é considerada pelos apicultores como uma espécie altamente polinífera. De acordo com Queiroz (2009), trata-se de uma espécie invasora muito comum, ocorrendo com frequência em áreas degradadas e em beira de estrada. Essa alta disponibilidade de plantas com a alta produtividade de pólen torna essa espécie com grande potencial apícola.

Em estudos recentes de identificação polínica em própolis no Brasil foram encontrados o tipo *Eucalyptus* muito frequente. Levando alguns autores a considerar as espécies desse gênero como uma das possíveis fontes da própolis brasileira (Barth, 1998; Barth, 1999; Bastos et al., 2000; Bastos, 2001; Santos et al., 2003; Freitas et al., 2010). *Eucalyptus* L'Hér. é um gênero que produz bastante pólen. É originado da Austrália e vem sendo utilizado em programas de reflorestamento. Em 1992 começou a implantação de eucalipto, em escala comercial e em teste de introdução de espécies e procedências, no litoral norte do estado da Bahia, havendo hoje extensas plantações dessas árvores para obtenção de celulose (Araújo et al., 2004).

Outro tipo polínico polinífero que ocorreu nas amostras da própolis do litoral norte da Bahia analisadas foi *Cecropia*. É um tipo polínico anemófilo bastante importante por ser indicador da origem geográfica de produto apícola devido ao fato de ser uma espécie típica de região da Mata Atlântica brasileira (Freitas et al., 2010). Esse tipo foi identificado por Barth & Luz (2009) em amostras de própolis baiana, entretanto Freitas et al. (2011) não identificaram o referido tipo em sua amostra.

O pólen da família Poaceae, também anemófilo, ocorreu em quinze amostras analisadas. Ele pode representar as muitas espécies de gramíneas (poliníferas), principalmente aquelas utilizadas em extensas plantações como a espécie *Saccharum officinarum* L. – a cana-de-açúcar muito cultivada na região do litoral norte da Bahia. (Menezes & Araújo, 2004). Barth & Luz (2009) identificaram pólen dessa família em todas as três amostras da própolis baiana que analisaram.

Como referido anteriormente, os tipos polínicos de baixa frequência em amostras de própolis podem ser considerados como referência de espécies botânicas fornecedoras de resina, sendo assim, as análises de própolis devem ser bem detalhadas e incluir uma quantidade razoável de amostras por regiões de estudo, tendo o cuidado de perceber que os tipos polínicos em baixa frequência nas amostras são importantes indicadores da flora do local de estudo (Bastos, 2001; Freitas et al., 2010).

As diferenças observadas no índice de similaridade podem estar relacionadas aos tipos polínicos com baixa frequência em cada município, alguns tipos apareceram em apenas algumas amostras podendo ser o responsável pela formação dos agrupamentos isolados (Moreti et al., 2000; Freitas et al., 2010).

Conclusões

A análise palinológica de própolis produzida em municípios do território do Litoral Norte do estado da Bahia identificou 59 tipos polínicos pertencentes a 19 famílias e 36 gêneros botânicos. A presença unânime nas amostras dos tipos polínicos *Mimosa pudica* e *Eucalyptus* caracterizaram a própolis produzida no território, contudo as plantas relativas a estes tipos polínicos não são bons marcadores geográficos pois representam plantas de ampla distribuição, como invasoras ou como plantas produtoras de celulose em extensas monoculturas – respectivamente.

Foram identificados no estudo alguns tipos polínicos anteriormente encontrados em outras análises que incluíram amostras da própolis baiana. Tipos pertencentes aos gêneros *Borreria*, *Cecropia*, *Schinus* e a família Poaceae comprovaram a importância deles na composição polínica da própolis baiana.

O estudo aqui detalhado tem sua importância na primazia de abordar palinologicamente amostras de própolis exclusivamente do estado da Bahia, categorizadas como própolis G6 (segundo Alencar, 2002). Os resultados apresentados serão a base para estudos futuros, com vistas à certificação desse produto apícola.

Referências

- Alencar, S.M. (2002). *Estudo fitoquímico da origem botânica da própolis e avaliação da composição química de mel de Apis mellifera africanizada de diferentes regiões do Brasil*. Campinas. Campinas, SP: ESALQ, *PhD. Diss.*
- Araújo, C. V. M., Alves, L. J., Santos, O. M. & Alves, J. M. (2004). Micorriza asbuscular em plantação de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell no litoral norte da Bahia, Brasil. *Act. bot. bras.*, 18,512-520.
- Barth, O.M. & Luz, C.F.P. (2009). Palynological analysis of Brazilian red propolis samples. *J. Apicult. Res.*, 48,181-188.
- Barth, O. M. (2005). Análise polínica do mel: avaliação de dados e seu significado. *Apacame*, 81, 2-6.
- Barth, O. M. (2004). Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. *Sci. Agri*, 61,342-350.
- Barth, O. M. & Luz, C. F. P. (2003). Palynological analysis of Brazilian geopropolis sediments. *Grana*, 42, 121-127.
- Barth, O. M., Dutra, V. M. L. & Justo, R. L. (1999). Análise polínica de algumas amostras de própolis do Brasil Meridional. *Cienci. Rural*, 29, 663-667.
- Barth, O. M. (1998). Pollen analysis of Brazilian propolis. *Grana*, 37, 97-101.
- Bastos, E. M. A. F. (2001). *Origem botânica e indicadores de qualidade da “própolis verde” produzida no Estado de Minas Gerais, Brasil*. Ribeirão Preto, SP: USP., *PhD. Diss.*
- Bastos, E. M. A. F., Oliveira, V. D. C. & Soares, A. E. E. (2000). Microscopic characterization of the green propolis, produced in Minas Gerais state, Brazil. *Honeybee Science*, 21, 179-180.
- Erdtman, G. (1960) The acetolysis method. A revised description. *Svensk Botanisk Tidskr.*, 54, 561–564.
- Freitas, A.S., Barth, O. M., Sales, E.O., Matsuda, A.H., Muradian, L.B.A. (2011). A palynological analysis of Brazilian própolis samples. *J. ApiProd*, 3, 67-74.
- Freitas, A. S., Barth, O. M. & Luz, C. F. P. (2010). Própolis marrom da vertente atlântica do Estado do Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação palinológica. *Rev. Bra. Bot.*, 33, 343-354.
- Ghisalberti, E.L. (1979). Propolis: a review. *Bee World*, 60: 59-84.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4, 1-9.

- Jones, G. D. & Bryant, JR. V. M. (1996). Melissopalynology. In Jansonius, J. & McGregor, D. C. (Ed.) *Palynology: principles and applications* (pp. 933-938). American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation.
- Lenzi, M. & Orth, A.I. (2004). Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia flora de *Schinus terebenthifolius* Raddi.(Anacardiaceae) em restinga de Santa Catarina, Brasil. *Biotemas*, 17, 67-89.
- Luz, C. F. P., Barth, O. M., Cano, C. B., Felsner, M. L., Cruz-Barros, M. A. V., Guimarães, M. I. T. M. & Correa, A. M. S. (2007). Origem botânica do mel e derivados apícolas e o controle de qualidade. In Barbosa, L.M. & Santos, JR. N. A. (Ed.) *A Botânica no Brasil: pesquisa, ensino e políticas ambientais* (pp.592-596). São Paulo: Sociedade Botânica do Brasil.
- Luz, C. F. P., Barth, O. M., Bacha-Júnior, G.L.(2009). Análise palinológica de própolis vermelha do Brasil: Subsidio da certificação da sua origem botânica e geográfica. *Apacame*, 102, 10-15.
- Marcucci, M.C.; Bankova, V.S. (1999). Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. *Phytochemical*, 2, 115-23.
- Masson, B. (1994). *Própolis: Um antibiótico natural*. São Paulo: Gaia.
- Menezes, L.F.T. & Araújo, D.S.D. (2004). Regeneração e riqueza da formação arbustiva de Palmae em uma cronosequência pós-fogo na Restinga da Marambaia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Act. bot. bras.*, 18, 771-780.
- Moreti, A. C. C. C., Carvalho, C. A. L., Marchini, L. C. & Oliveira, P. C. F. (2000). Espectro polínico de amostras de mel de *Apis mellifera* L. coletadas na Bahia. *Bragantia*, 59, 1-6.
- Oliveira, P. P. (2009). *Análise palinológica de amostras de mel de Apis mellifera L. produzida no estado da Bahia*. Feira de Santana, BA: UEFS Grad. Progr. Bot., *PhD. Diss.*
- Park, Y. K., Alencar, S. M., Aguiar, C. L. & Paredes-Gusmán, J. (2005). Composição química de *Baccharis dracunculifolia*, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. *Cienc. Rural*, 35, 909-915.
- Queiroz, L. P. (2009). *Leguminosas da Caatinga*. Feira de Santana: UEFS/Kew: R. Bot. Gard.
- Righi, A. A. (2008). *Perfil químico de amostras de própolis brasileira*. São Paulo, SP: USP. *PhD. Diss.*
- Santos, F.A.R. (2011). Identificação botânica do pólen apícola. *Magistra*, 23, 5-9.
- Santos, F. A., Bastos, E. M. A. F., Maia, A. B. R. A., Uzeda, M., Carvalho, M. A. R., Farias, L. M. & Moreira, E. S. A. (2003). Brazilian propolis: physicochemical properties, plant origin and antibacterial activity on periodontopathogens. *Phytother. Res.*, 17, 285-289.

Sawaya A. C. H. F., Cunha I. B. S., Marcucci, M. C, Oliveira-Rodrigues R, F. & Eberlin, M. (2006). Brazilian propolis of *Tetragonisca angustula* and *Apis mellifera*. *Apidologie*, 37, 398-407.

Silva, V.I.S. & Menezes, C.M. (2007). Manejo no Litoral Norte da Bahia. *Rev. Bras. Biocien.*, 5, 159-161.

SEI- Superintendência de Estudos Sociais e Econômicos do Estado da Bahia. (2002). *Regiões econômicas do estado da Bahia*. Disponível em: <http://www.sei.ba.gov.br/>. (Acessado em Junho de 2011).

Sodre, G. S., Marchinni, L. C., Moreti, A. G. C. C. & Carvalho, C. A. L. C. (2008). Tipos polínicos encontrados em amostras de méis de *Apis mellifera* em Picos, Estado do Piauí. *Cienc. Rural*, 38, 839-842.

Teixeira, E.W., Messsage, D., Meira, R. M. S. A. & Salatino, A. (2003). Indicadores da origem botânica da própolis, importância e perspectivas. Revisão bibliográfica. *Bol. Ind.Anim.*, 60, 83-106.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerações Finais

Os valores obtidos na análise do teor de fenólicos totais na própolis produzida no litoral norte do estado da Bahia se enquadram nas normas da legislação brasileira. A composição floral da região de coleta, a genética das rainhas e a época em que as amostras foram coletadas podem ser os fatores responsáveis pela variação dos dados encontrados nesse estudo.

Com o crescente interesse internacional nas propriedades terapêuticas da própolis, levando a um aumento da valorização comercial do produto, e por essa característica está diretamente conectada ao teor de fenólicos totais é necessário intensificar os estudos a cerca desse tema de forma a valorizar a própolis produzida no estado.

Dois tipos polínicos se destacaram na caracterização palinológica da área de estudo. Os grãos de *Mimosa pudica* e de *Eucalyptus* foram unânimes nas amostras, contudo, esses tipos não são bons marcadores geográficos. Representam espécies de ampla distribuição, invasoras e utilizadas em extensas monoculturas.

A identificação palinológica da própolis ainda é muito limitada devido à falta de embasamento científico em relação a esse tipo de análise a qual ainda é muito restrita, principalmente ao Sul e Sudeste do país. Essa dificuldade aliada à falta de dados da flora apícola da região de estudo aumenta o risco de erro nas identificações.

É necessário incentivar estudos que promovam o reconhecimento da flora apícola no estado. Nesse sentido o estudo aqui detalhado tem sua importância ao abordar exclusivamente amostras da própolis produzida no litoral norte do Estado. Os resultados aqui apresentados serão a base para futuros estudos, com vistas à certificação da própolis produzida na região.