UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

MESTRADO EM SAÚDE E AMBIENTE

RICHARD PEREIRA DUTRA

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO GEOPRÓPOLIS DE *Melipona fasciculata* Smith (Tiúba) PRODUZIDO NO ESTADO DO MARANHÃO

São Luís - MA

2006

RICHARD PEREIRA DUTRA

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE GEOPRÓPOLIS DE *Melipona fasciculata* Smith (Tiúba) PRODUZIDO NO ESTADO DO MARANHÃO

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do titulo de Mestre em Saúde e Ambiente.

Orientadora: Profª Drª Maria Nilce de Sousa Ribeiro

São Luís - MA

2006

Dutra, Richard Pereira

Características físico-químicas de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) produzido no Estado do Maranhão / Richard Pereira Dutra. – São Luís, 2006.

67 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Maranhão, 2006.

1. Geoprópolis - Composição química 2. Fenólicos – Flavonóides 3. Perfil cromatográfico 4. *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) – Maranhão.

CDU 638.124.4 (812.11)

RICHARD PEREIRA DUTRA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do titulo de Mestre em Saúde e Ambiente.

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

_____

Profa. Dra. Maria Nilce de Sousa Ribeiro (Orientadora)
Doutora em Química Orgânica
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

_____

Profa. Dra. Maria Célia Pires Costa
Doutora em Físico-Química
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

_____

Profa. Dra. Flávia Raquel Fernandes do Nascimento
Doutora em Imunologia
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

_____

Profa. Dra. Patrícia Maria Correia de Albuquerque
Doutora em Entomologia
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

A minha mãe, ***Vasti Pereira Dutra****,*
eterna incentivadora, pelo amor,
compreensão e por estar sempre ao meu
lado.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por iluminar minha vida e ser minha fortaleza.

À Profa. Dra. Maria Nilce de Sousa Ribeiro não só pelas orientações, mas pela paciência, dedicação e pelos incentivos fundamentais na realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Maria Célia Pires Costa pela amizade, carinho, sugestões e colaborações indispensáveis.

À Profa. Ms. Sônia Maria Farias Freire pela colaboração na análise dos dados.

À Janieide Karla Castro Sousa, Luciana Sobreira Carvalho e Vivia Ruth Abrantes Gonçalves da Central Analítica do Departamento de Química – UFMA, pelo apoio, amizade, disponibilidade e fundamental ajuda durante a realização deste trabalho.

Aos amigos Jeamile Lima Bezerra, Rodrigo René de Oliveira Marques, Izabel Portela Bogéa Serra e Alexandre Michel Costa Nogueira do Laboratório de Farmacognosia – UFMA, pelas contribuições na execução do trabalho.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Maranhão - FAPEMA pela bolsa de mestrado de Richard Pereira Dutra.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro (Proc n° CNPq/UEMA 5507387/01-0)

À Central Analítica do Departamento de Química – UFMA pelo uso do espectrofotômetro UV-Visível.

Aos meliponicultores pela doação das amostras de geoprópolis.

A Todos os Professores, colegas e funcionários da Pós-Graduação do Mestrado em Saúde e Ambiente que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

"Se queremos progredir,
não devemos repetir a história,
mas fazer uma nova história"
Gandhi

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1º Artigo

Figura 1 – Geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba)..... 27

Figura 2 – Cromatograma dos EHAG (1-7) de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) dos municípios da Baixada Maranhense..... 33

Tabela 1 – Características sensoriais do geoprópolis..... 28

Tabela 2 – Características sensoriais dos extratos hidroalcoólico de geoprópolis..... 29

Tabela 3 – Rendimento do processo extrativo do extrato hidroalcoólico de geoprópolis.. 30

Tabela 4 – Teor de material inorgânico (terra) nas amostras de geoprópolis..... 31

Tabela 5 – Abordagem química dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis..... 32

Tabela 6 – Teor de flavonóides dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis..... 34

2º Artigo

Tabela 1 – Características sensoriais dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis..... 52

Tabela 2 – Abordagem química dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis..... 53

Tabela 3 – Concentração de fenólicos e flavonóides em geoprópolis de tiúba..... 54

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 8

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral 12

2.2. Objetivos Específicos..... 12

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. 1º ARTIGO

Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith da Baixada Maranhense, Brasil..... 13

3.2. 2º ARTIGO

Características físico-químicas de extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) de diferentes regiões geográficas do Maranhão, Brasil..... 35

4. CONCLUSÃO..... 55

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 56

6. REFERÊNCIAS 57

ANEXOS..... 60

1. INTRODUÇÃO

Própolis é uma resina de coloração e consistência variada produzida pelas abelhas, a partir da mistura de substâncias coletadas de diferentes partes das plantas, como brotos, botões florais e exsudados resinosos, com as secreções produzidas em seu organismo. É utilizada pelas abelhas para fechar pequenas frestas da colméia, protegê-la contra a invasão de insetos, microrganismos e embalsamar insetos mortos (Ghisalberti, 1979).

Dentre os produtos oriundos das abelhas tais como mel, geléia real, pólen, entre outros, a própolis vem se destacando tanto pelas suas propriedades terapêuticas como atividade antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante, anestésica (Ghisalberti, 1979; Bankova et al., 1989), anticariogênica (Park et al.,1998a, 1998b; Koo et al., 1999), antiviral, antiúlcerativa, hipotensora (Marcuccci, 1995), quanto pela possibilidade de aplicação nas indústrias farmacêutica e alimentícia, na forma de alimentos funcionais (Ackermann, 1991).

A própolis é um material de amplo mercado e hoje é o produto apícola brasileiro mais exportado, principalmente para o mercado asiático. O valor deste produto está relacionado a sua composição química e atividades biológicas, as quais variam em função da vegetação da qual foram coletadas as resinas para sua elaboração (Pereira et al., 2002).

As atividades terapêuticas da própolis podem ser atribuídas as diversas classes de compostos como, lignóides, carboidratos, monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, flavonóides e ácidos fenólicos. Sendo estes últimos os principais responsáveis pelas suas propriedades biológicas (Marcucci, 1995; Bankova et al., 1998).

A própolis possui atividade antibacteriana principalmente contra bactérias Gram-positivas. Esta atividade é conferida à presença de flavonóides, ácidos fenólicos e ésteres presentes na resina (Burdock, 1998), mas a relação entre a estrutura e a atividade antibacteriana da própolis é desconhecida (Marcucci et al., 2001).

A diversidade química da própolis é determinada pela flora visitada pelas abelhas, época de coleta e também pelo tipo de abelha. Sua composição química depende especificamente da diversidade da flora local, isso explica a grande diversidade química da própolis, especificamente a própolis de regiões tropicais (Bankova, 2005). Uma menor variação da composição química é observada nas regiões temperadas, como na Europa onde seus principais compostos bioativos são os flavonóides (Koening, 1985).

Diversos trabalhos já foram publicados sobre a origem vegetal de tipos de própolis brasileira como própolis verde. A análise química comparada entre amostras de própolis verde e amostras de alecrim do campo, *Baccharis dracunculifolia*, concluíram que este vegetal é a fonte encontrada pelas abelhas para a produção da própolis verde (Teixeira et al., 2005).

Em países da América do Sul, existem espécies de abelhas sem ferrão, da tribo Meliponini, que coletam materiais resinosos das plantas e os misturam com cera, produzida na colméia e ainda com barro ou terra formando o geoprópolis. As abelhas nativas são geralmente pequenas, menores do que abelhas do gênero *Apis*, e estão agrupadas em dois gêneros principais: *Melipona* e *Trigona* (Kerr, 1987).

Pouco é conhecido acerca da composição química de geoprópolis tropical. Compostos fenólicos de geoprópolis de cinco espécies de abelhas da Venezuela foram descritos por Tomas-Barberan et al., (1993), onde predominam substâncias do tipo benzofenonas preniladas.

Bankova et al. (1998), descreveram a constituição química de geoprópolis brasileiro (Estados do Piauí e Paraná) de três diferentes abelhas encontradas no Brasil, *Melipona compressipes, Melipona quadrifasciata anthidioides e Tetragona clavipes,* onde identificaram mais de cinqüenta compostos, das classes dos ácidos graxos, ácidos aromáticos, flavonóides, diterpenos e triterpenos.

No Maranhão, há cultivo tanto de meliponíneos, como de *Apis mellifera,* abelha africana introduzida no Brasil. Dentre os meliponíneos, *Melipona fasciculata* Smith, popularmente conhecida como tiúba, ocupa lugar de destaque em todo o estado do Maranhão, principalmente na produção de mel e geoprópolis. Essa espécie vem sendo cultivada há séculos pela população indígena maranhense, que dela vem retirando produtos importantes como mel, cera e geoprópolis. São criadas comercialmente em agrupamentos de colônias, denominados meliponários, os quais constituem a meliponicultura (Kerr, 1987; Freire, 1995; Nogueira-Neto, 1997).

A criação de abelhas no estado do Maranhão reúne algumas características bastante favoráveis. O Estado possui um grande número de ecossistemas, tais como: restinga, manguezais, cocais, caatinga, floresta tropical úmida, cerrado, campos rupestres e campos alagáveis. Dessa forma, a matéria prima que serve de suporte para o trabalho das abelhas, origina-se na abundante biodiversidade regional.

Estudos desenvolvidos pelo grupo de produtos naturais compostos por pesquisadores da Universidade Federal do Maranhão - UFMA e Universidade Estadual do Maranhão - UEMA no estado do Maranhão demonstraram as características sensoriais assim como a presença de compostos fenólicos, terpenos e saponinas em amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, coletadas em municípios de diferentes regiões geográficas do estado (Nogueira et al., 2004; Nogueira, 2005). Gomes et al. (2003); Gomes; Borges (2004) e Gomes (2005) demonstraram as atividades analgésica, antiinflamatória e antiedematogênica do extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba, produzido no estado do Maranhão. Duailibe (2004), em trabalhos experimentais, demonstrou que o bochecho da solução do extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba, diminuiu em 48,5% o número de colônias de *Streptococcus mutans* na saliva de pacientes, determinando ação anti-cariogênica.

Maciel (2005) utilizando extrato de geoprópolis demonstrou atividade antimicrobiana *in vitro* contra patógenos orais, sugerindo o uso deste extrato como método auxiliar no tratamento das doenças periodontais. Dutra et al. (2005) determinaram os teores de flavonóides em extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba cultivadas na Baixada Maranhense.

O governo do estado do Maranhão inseriu nos últimos anos a apicultura e a meliponicultura dentro dos arranjos produtivos como áreas estratégicas, para desenvolver e alavancar a agricultura familiar do Estado (BNB, 2001). Essas atividades são consideradas, hoje, uma das grandes opções para a região nordestina, especialmente no estado do Maranhão, por sua posição geográfica, por possuir diversidade florística nos diferentes ecossistemas, por explorar o potencial nativo da flora e gerar trabalho e renda ao homem do campo.

A caracterização e a padronização química da geoprópolis, levando em conta as condições ambientais em que são produzidas, são fundamentais para melhorar a qualidade desses produtos e dar garantia às pessoas que os consomem.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral:

- Determinar parâmetros físicos, físico-químicos e químicos para caracterização, controle de qualidade e padronização de geoprópolis produzido pela abelha tiúba (*Melipona fasciculata* Smith) cultivada em municípios do estado do Maranhão.

2.2 Específicos:

- Quantificar os teores de compostos fenólicos no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith).
- Quantificar os teores de flavonóides no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith).
- Avaliar os caracteres físico-químicos do geoprópolis e extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith).
- Contribuir para o estabelecimento de parâmetros para controle de qualidade relativo aos teores de compostos fenólicos e flavonóides para o extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith.
- Contribuir com informações científicas para a produção de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith dentro de padrões de qualidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Artigo

Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith da Baixada Maranhense, Brasil

Richard Pereira Dutra [1], Alexandre Michel Costa Nogueira [1], Rodrigo René de Oliveira Marques [1], Maria Célia Pires Costa [2], Maria Nilce Sousa Ribeiro [1]*

[1] Laboratório Farmacognosia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga, 65085-580, São Luís-MA,Brasil

[2] Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão, Campus Universitário Paulo VI, 65055-970, São Luís-MA,Brasil

Endereço para correspondência:

Maria Nilce de Sousa Ribeiro

Universidade Federal do Maranhão

Laboratório de Farmacognosia

Av. dos Portugueses s/n, Campus do Bacanga

São Luís, MA. CEP: 65085-58

Tel./Fax. 55 98 21098592

*E-mail: mnribeiro@ufma.br

** E-mail: mnribeiro@ufma.br, Tel. + 55-98-21098592*

RESUMO: *Melipona fasciculata* Smith é uma abelhas nativa, social e sem ferrão que produz cera, mel e geoprópolis. O presente trabalho objetivou caracterizar, do ponto de vista farmacognóstico o geoprópolis de *Melipona fasciculata*, coletado em meliponários nos municípios de Arari, São Bento e São João Batista, da Baixada Maranhense, no estado do Maranhão, visando estabelecer dados para o controle de qualidade e padronização do produto. A metodologia utilizada constou de analises sensoriais, abordagem química, perfis cromatográficos e determinação dos teores de flavonóides. Os resultados demonstram que o geoprópolis apresenta características sensoriais similares às encontradas para própolis de *Apis mellifera*, presença de compostos fenólicos em maior concentração, além de substâncias da classe dos terpenos e saponinas e ausência de alcalóides. Os perfis cromatográficos indicaram que a composição e concentração das substâncias químicas são diferentes entre as amostras. Os teores de flavonóides variaram de 0,17-2,6%, os quais para a maioria das amostras apresentaram valores acima do mínimo exigido pela legislação brasileira para própolis de *Apis mellifera*. Os dados encontrados sugerem que as variações qualitativa e quantitativa de flavonóides e outros constituintes químicos no geoprópolis são fortemente afetados pela flora visitada pelas abelhas, região geográfica e fatores ambientais.

Unitermos: Geoprópolis, *Melipona fasciculata*, flavonóides, controle de qualidade, padronização.

ABSTRACT: "Pharmacognostic evaluation of geopropolis of *Melipona fasciculata* Smith at Baixada Maranhense, Brazil". *Melipona fasciculata* Smith is a native, social, stingless bee specie that produces wax, honey and geopropolis. This work aimed to do a pharmacologic evaluation of *Melipona fasciculata* geopropolis, collected in beehives in the municipal districts of Arari, Sao Bento and Sao Joao Batista, in Baixada Maranhense, in the state of Maranhão, seeking to obtaining basis for the quality control and standardization of the product. The methodology used included the accomplishment of sensorial analyses, chemical approach, chromatographic profiles and determination of the flavonoids tenors. The results demonstrate that the geopropolis have sensorial characteristics similar to the ones found for propolis of *Apis mellifera*, presence of phenolic compounds in larger concentration, besides substances of the class of the terpenes and saponins and absence of alkaloids. The chromatographic profiles indicated that the composition and concentration of the chemical substances are different among the samples. The flavonoids tenors ranging between 0.17-2.6%. The tenor for most of the samples presented values above the minimum demanded by the Brazilian legislation for propolis of *Apis mellifera*. The found data suggest that the qualitative and quantitative variations of flavonoids and other chemical substances in geopropolis are strongly affected for the flora visited by the bees, geographical area and environmental factor.

Keywords: Geopropolis, *Melipona fasciculata*, flavonoids, control quality, standartization.

INTRODUÇÃO

Os meliponíneos, abelhas nativas, sociais e sem ferrão, ocupam grande parte das regiões de clima tropical no planeta, especialmente na América do Sul. No Brasil são conhecidas mais de 400 espécies de abelhas nativas, as quais são responsáveis em 90% pela polinização de vegetais nativos. No estado do Maranhão, *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) já vem sendo cultivada há séculos pela população indígena, para produção de mel. Atualmente são criadas comercialmente em agrupamentos de colônias, denominados meliponários, que constituem a meliponicultura (Kerr, 1987; Freire, 1995; Nogueira-Neto, 1997).

Melipona fasciculata Smith coleta material resinoso das plantas e traz para sua colméia, mistura com cera e barro ou terra formando o geoprópolis (Kerr, 1987), diferentemente da própolis produzida pela *Apis mellifera,* abelha introduzida no Brasil. Dentre os produtos apícolas a própolis vem se destacando tanto pelas suas propriedades terapêuticas como antimicrobiana, antiinflamatória, analgésica, cicatrizante, anticariogênica e anestésica, quanto pela possibilidade de aplicação na indústria alimentícia e farmacêutica (Ghisalberti, 1979; Bankova et al., 1989; Park et al., 1998a,b; Koo et al., 1999).

Os efeitos terapêuticos da própolis têm sido atribuídos aos diversos compostos polifenólicos que a compõem. Entre eles, os flavonóides e ácidos fenólicos podem ser considerados os principais compostos (Marcucci, 1995). Silva et al. (2006) demonstraram a correlação entre os níveis de compostos fenólicos de extratos de própolis brasileiras e suas atividades antimicrobianas.

Estudos sobre composição química e ação farmacológica de geoprópolis tropical são escassos. Tomas-Barberan et al. (1993) descreveram compostos fenólicos de geoprópolis de cinco espécies de abelhas da Venezuela.

Bankova et al. (1998) identificaram mais de cinqüenta compostos, principalmente fenólicos e terpênicos de geoprópolis brasileiro, produzido pelas abelhas *Melipona compressipes*, *Melipona quadrifasciata anthidioides* e *Tetragona clavipes*.

O estado do Maranhão apresenta um forte potencial apícola e meliponícula mas, pesquisas científicas relacionadas aos temas são incipientes, o que justifica o estudo das características físico-químicas, químicas e farmacológicas do geoprópolis maranhense. Nogueira et al. (2004a,b) demonstraram que o geoprópolis maranhense tem cheiro, odor e sabor característico, é rico em substâncias químicas das classes dos compostos fenólicos e dos triterpenos. Gomes et al. (2003) demonstraram as atividades antiinflamatória e analgésica do extrato hidroalcoolico de geoprópolis da tiúba. Duailibe (2004) demonstrou que o uso de bochecho da solução do extrato alcoólico de geoprópolis da tiúba diminuiu em 48,5% o número de colônias de *Streptococcus mutans*, na saliva dos pacientes.

O governo do estado do Maranhão inseriu nos últimos anos a apicultura e a meliponicultura dentro dos arranjos produtivos como áreas estratégicas, para desenvolver e alavancar a agricultura familiar do estado (BNB, 2001). Essas atividades são consideradas, hoje, uma das grandes opções para a região nordestina, especialmente no estado do Maranhão, por sua posição geográfica, por possuir grande número de ecossistemas, por explorar o potencial nativo da flora e por gerar trabalho e renda ao homem do campo.

A caracterização e a padronização química do geoprópolis, levando em conta as condições ambientais em que são produzidos, são fundamentais para melhorar a qualidade desses produtos e dar garantia às pessoas que os compram e os consomem.

No presente trabalho objetivou-se caracterizar do ponto de vista farmacognóstico o geoprópolis de *Melipona fasciculata* (tiúba), coletados em meliponários nos municípios de Arari, São Bento e São João Batista, localizados na região da Baixada Maranhense, procurando estabelecer parâmetros sensoriais, perfis cromatográficos e teores de flavonóides, como base para obtenção de dados para o controle de qualidade e padronização do produto.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de material

As amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, foram coletadas com auxílio de espátulas esterilizadas, diretamente em meliponários de diferentes localidades dos municípios de Arari, São João Batista e São Bento, da Baixada maranhense, Brasil, no final da estação chuvosa e início da estação seca, durante o mês de agosto de 2003. Foram acondicionados, isoladamente em frascos de vidro âmbar esterilizados e mantidos sob refrigeração, as quais foram denominadas 1-7 respectivamente.

Os municípios da Baixada maranhense são formados por diferentes ecossistemas, como manguezais, campos inundáveis, lagoas, babaçuais e florestas (Moura, 2004).

Análises sensoriais

As amostras de geoprópolis após coleta foram submetidas a análises sensoriais de: aroma, cor e sabor (Marcucci, 1998; Brasil, 2001).

Preparação dos extratos orgânicos de geoprópolis

Os geoprópolis de cada localidade separadamente foram triturados em turbolizador e macerados em etanol a 70%, por 24h, filtrados para separação da parte inorgânica (terra), obtendo-se soluções hidroalcoólicas de geoprópolis, as quais foram concentradas em evaporador rotativo e seco até peso constante. Os extratos hidroalcoólicos de geoprópolis

(EHAG) foram acondicionados em frascos âmbar e mantidos sob refrigeração para as posteriores análises.

Abordagem química dos EHAG

Os EHAG foram submetidos à abordagem química para verificação de compostos das classes dos compostos fenólicos, alcalóides, terpenos e saponinas (Matos, 1997).

Perfil cromatográfico dos EHAG

Os EHAG (5µL) foram submetidos à cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), utilizando-se placas sílica gel $60GF_{254 + 366}$ (Merck), usando hexano-acetato de etila (60:40, v/v) como fase móvel. A visualização das manchas foi efetuada por exposição da placa à luz UV (254 e 366 nm). A revelação dos flavonóides, foi realizada através de borrificação com solução alcoólica de $AlCl_3$ 1% (Wagner; Bladt, 1996). As placas foram documentadas por fotografia digital.

Determinação da concentração total de flavonóides dos EHAG

A concentração de flavonóides foi determinada utilizando $AlCl_3$ para formar o complexo, usando espectrofotômetro Cary 50 UV-VIS a 425 nm. Concentrações de quercetina (Merck) foram usadas como padrões e os resultados obtidos foram expressos como grama (g) de quercetina por 10 mL de extrato hidroalcoólico de geoprópolis (%) (Woisky; Salatino, 1998; Chaillou et al., 2004; Funari; Ferro, 2006).

Análise Estatística

Todas as análises espectrofotométricas foram realizadas em triplicatas. Com esses resultados foi feita Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas (Newman-Keuls) utilizando o software Graph Pad Prism, versão 4.03, tomando-se o valor de $p \leq 0,05$ como nível máximo de significância estatística (Sokal; Rohlf, 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os geoprópolis apresentaram-se como fragmentos rígidos de diferentes tamanhos, com granulometria heterogênea (Figura 1), inodoros, coloração marrom escuro e sabor amargo, conforme dados da Tabela 1. Constatou-se que a predominância de terra nas amostras não permite uma diferenciação sensorial.

As análises sensoriais dos EHAG estão descritos na Tabela 2. As amostras 1-5 possuem cor marrom escuro, odor resinoso a adocicado e sabor insípido, enquanto as amostras 6-7 apresentam odor adocicado, sabor amargo e cor marrom escuro. Esses caracteres são similares aos encontrados para a própolis de *Apis mellifera,* coletadas em diferentes regiões brasileiras (Marcucci, 1995; Park et al., 2002; Franco et al., 2000; Funari; Ferro, 2006).

Os rendimentos dos processos extrativos das amostras de geoprópolis obtidos por maceração em etanol a 70% (v/v) variaram entre 1,10-5,83% (Tabela 3). Bankova et al. (1998) submeteram amostras de geoprópolis de *Melipona compressipes* coletadas no município de Picos-PI a maceração em etanol a 70% (v/v), obtendo rendimento de 5% de extrato seco, enquanto que amostras de geoprópolis de *Melipona quadrifasciata anthidioides* do município de Prudentópolis-PR, tiveram rendimento de 17%. Estudos realizados por Cunha et al. (2004) indicam que o maior rendimento nos processos de extração de própolis por maceração ocorre nos sistemas onde a proporção de etanol é igual ou superior a 70% (v/v).

A tiúba utiliza além do material retirado das plantas, terra para formar o geoprópolis, cujo teor variou aproximadamente entre 94-98% (Tabela 4), diferentemente de outras espécies de Apidae, como *Apis mellifera*, que utilizam material das plantas e adicionam cera e secreções salivares para formar a própolis.

A abordagem química dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis indicou a presença de substâncias das classes dos compostos fenólicos, dos triterpenos e das saponinas (Tabela 5) predominando maior concentração de compostos fenólicos nas amostras 1-3, diminuindo a concentração dos mesmos nas amostras 5-7. Substâncias fenólicas estão presentes em própolis de *Apis mellifera* européias e sul-americanas (Greenaway et al., 1990; Marcucci et al., 1998; Woisky; Salatino, 1998; Bankova et al., 2000) e em geoprópolis brasileiras das abelhas

Melipona compressipes (Picos-PI), *Tetragona clavipes* e *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Prudentópolis-PR) (Tomas-Barberan et al., 1993; Bankova et al., 1998). Somente as amostras 1, 2, 5 e 6 apresentaram reação fracamente positiva para triterpenos e saponinas. Substâncias triterpênicas têm sido detectadas em própolis tropicais de *Apis mellifera* e geoprópolis (Bankova et al., 2000; Silva et al., 2005). Não foram detectados alcalóides nas amostras analisadas.

Na Figura 2 estão apresentados os perfis cromatográficos dos **EHAG.** As amostras 1-7 analisadas por CCDC e reveladas com lâmpadas UV indicaram presença de manchas fluorescentes em cada amostra. A intensificação das fluorescências nas manchas, após borrificação com $AlCl_3$ 1%, comprova a presença de substâncias flavonoídicas. A presença dos flavonóides foi confirmada pelo doseamento dos mesmos utilizando ensaios espectrofotométricos.

Os teores de flavonóides encontrados nas amostras variaram entre 0,17-2,67% (Tabela 6). Constatou-se que a amostra 2 apresenta o maior teor de flavonóides (2,67%), que de acordo com a legislação brasileira para classificação de própolis de *Apis mellifera,* pode ser considerada como de alto teor de flavonóides. As amostras 1 (1,77%), 5 (1,12%), 6 e 7 (0,61%), apresentaram valores acima do teor médio exigido pela legislação. Enquanto as amostras 3 e 4 apresentaram 0,17% de flavonóides, podendo ser classificadas de própolis de

baixo teor, conforme exigido pela referida legislação (Brasil, 2001; Funari; Ferro, 2006). Ressalta-se a falta de legislação para produtos de outras espécies de abelhas.

Os resultados da análise estatística, evidenciaram diferenças significativas entre os EHAG 1, 2, 5, 6 e 7 para o teor de flavonóides ($p < 0,001$), entretanto entre os EHAG 3 e 4 a diferença não foi significativa ($p \geq 0,05$).

A variação qualitativa e quantitativa de flavonóides e outros constituintes químicos em própolis e geoprópolis é fortemente afetadas pela flora visitada pelas abelhas, região geográfica e fatores climáticos (Teixeira et al., 2003; Bankova, 2005; Gomes-Caravaca et al., 2006). Considerando que a região da Baixada maranhense é formada por ecossistemas heterogêneos, constituindo-se de litoral atlântico, reentrâncias e manguezais, lagoas e terras alagadas, terrenos altos com capoeiras, babaçuais e mata (Moura, 2004), é justificada a variação destes constituintes químicos.

Os resultados obtidos permitem obter parâmetros de controle qualidade para o geoprópolis e seus derivados da Baixada maranhense. Considerando que a região é uma grande produtora de mel, produto base do negócio apícola e meliponícula, o conhecimento do perfil de qualidade agrega valores a mais um produto deste setor, contribuindo para o desenvolvimento do agronegócio no estado do Maranhão.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro (Proc n° CNPq/UEMA 5507387/01-0) e bolsa de Iniciação Cientifica para Alexandre M. C. Nogueira. À FAPEMA pela bolsa de mestrado de Richard Pereira Dutra. A Central Analítica do Departamento de Química– UFMA pelo uso do espectrofotômetro UV-VIS.

REFERÊNCIAS

Bankova V, Popov S, Marekov NL 1989. Isopentenyl cinnamates from poplar buds and propolis. *Phytochemistry 28*: 871-873.

Bankova V, Christov R, Marcucci MC, Popov S 1998. Constituents of brazilian geopropolis. *Z Naturforschung 53*: 402-406.

Bankova V, Castro SL, Marcucci MC 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie 31*: 3–15.

Bankova V 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol 100*: 114-117.

BNB 2001. Diversificação da produção Apícola. Palestra proferida no lançamento do programa de desenvolvimento da apicultura do Estado do Maranhão. Banco do Nordeste, São Luís, Brasil.

Brasil 2001. Ministério de Agricultura e do Abastecimento. Instrução normativa nº 3 – Anexo VI – Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil. Brasília, Brasil.

Chaillou LL, Herrera HA, Maidana JF 2004. Estudo de própolis de Santiago Del Estero, Argentina. *Ciên Tecnol Aliment 24*: 11-15.

Cunha IBS, Sawaya ACHF, Caetano FM, Shimizu MT, Marcucci MC, Drezza FT, Povia GS, Carvalho PO 2004. Factors that influence the yield and composition of brazilian propolis extracts. *J Braz Chem Soc 15*: 964-970.

Duailibe SAC 2004. *Efeito do extrato de própolis na contagem de Streptococcus mutans da cavidade oral.* São Luís, 73p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão.

Franco SL, Bruschi ML, Moura LPP, Bueno JHF 2000. Avaliação farmacognóstica da própolis da região de Maringá. *Rev Bras Farmacogn 9/10*: 1-10.

Freire SS 1995. Meliponicultura racional no Nordeste e na Amazônia brasileira. *47 Reunião Anual da Sociedade Brasileira Progresso da Ciência*. São Luís, Brasil.

Funari CS, FerroVO 2006. Análise de própolis. *Ciên Tecnol Aliment 26*: 171-178.

Ghisalberti EL 1979. Propolis: A review. *Bee World 60*: 59-84.

Gómez-Caravaca AM, Gómez-Romero M, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmacol Biom Anal 41*: 1220-1234.

Gomes VA, Nogueira AMC, Marques EC, Santana ER, Barros FER, Borges MOR, Borges ACR, Ribeiro MNS 2003. Estudos das atividades antiinflamatórias e antinociceptiva da própolis de *Melipona compressipes fasciculata* Smith (tiúba). *XV Seminário de Iniciação Científica*. São Luís, Brasil.

Greenaway W, Scaysbrook T, Whatley FR 1990. The composition and plant origins of propolis. *Bee World 71*: 107-118.

Kerr W 1987. Abelhas indígenas brasileiras (meliponíneos) na polinização e na produção de mel, pólen, geoprópolis e cera. *Inf Agropec 13*: 15-27.

Koo H, Park YK, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL 1999. Effect of *Apis mellifera* propolis from two Brazilian regions on caries development in desalivated rats. *Caries Res 33*: 393-400.

Marcucci MC 1995. Própolis: a chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie 26*: 83-99.

Marcucci MC, Rodriguez J, Ferreres F, Bankova V, Groto R, Popov S 1998. Chemical composition of brazilian propolis from São Paulo State. *Z Naturforsch* 53: 117-119.

Matos FJA 1997. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. Fortaleza: Edições UFC.

Moura EG 2004. *Agroambientes de Transição: entre o trópico úmido e o semi-árido do Brasil*. São Luís: UEMA.

Nogueira AMC, Matos RRO, Costa MCP, Ribeiro MNS 2004a. Própolis da tiúba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith): aspectos químicos e físico-químicos. *LVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira Progresso da Ciência*. Brasília, Brasil.

Nogueira, AMC, Matos RRO, Gomes VA, Ribeiro MNS, Borges MO R, Borges ACR, Costa MCP 2004b. Química e farmacologia de geoprópolis da tiúba. *IV Reunião Regional da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*. São Luís, Brasil.

Nogueira-Neto P 1997. *A vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão (Meliponinae)*. São Paulo: Nogueirapes.

Park YK, Alencar SM, Aguiar CL 2002. Botanical origin and chemical composition of brasilian propolis. *J Agric Food Chem 50*: 2502-2506.

Park YK, Koo H, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL, Abreu JAS 1998a. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Cur Microbiol 34*: 24 -28.

Park YK, Koo H, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL, Abreu JAS 1998b. Effect of propolis on *Streptococcus mutans*, *Actinomyces naeslundii* and *Staphylococcus aureus*. *Rev Microbiol* 29: 143-148.

Silva JFM, Souza MC, Matta SR, Andrade MR, Vidal FVN 2006. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem 99*: 431-435.

Silva MSS, Cito AMGL, Chaves MH, Lopes JAD 2005. Triterpenóides tipo cicloartano de própolis de Teresina –PI. *Quím Nova 28*: 801-804.

Sokal RR, Rohlf FJ 1996. *Biometry: The principle and practice of statistics.* Biological Research. 2 ed. New York: W. H. Freeman and company.

Teixeira EW, Message D, Meira RMSA, Salatino A 2003. Indicadores da origem botânica da própolis: Importância e perspectivas. *B Indústr Anim 60*: 83-106.

Tomas-Barberan FA, Garcia-Viguera C, Vit-Olivier P, Ferreres F, Tomas-Lorente F 1993. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical from Venezuela. *Phytochemistry*. *34*: 191-196.

Wagner H, Bladt S 1996. *Plant drug analysis*: a thin layer chromatography atlas. Berlin: Springer.

Woisky RGR, Salatino A 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J Apic Res 37*: 99-105.

Figura 1. Geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba)

Tabela 1. Características sensoriais do geoprópolis

Amostra	Município	Aroma	Cor	Sabor
1	Arari	Inodoro	Marrom escuro	Amargo
2	Arari	Inodoro	Marrom escuro	Amargo
3	Arari	Inodoro	Marrom escuro	Amargo
4	Arari	Inodoro	Marrom escuro	Amargo
5	Arari	Inodoro	Marrom escuro	Amargo
6	São João Batista	Inodoro	Marrom escuro	Amargo
7	São Bento	Inodoro	Marrom escuro	Amargo

Tabela 2. Características sensoriais dos extratos hidroalcoólico de geoprópolis

Amostra	Município	Aroma	Cor	Sabor
1	Arari	Resinoso	Marrom escuro	Insípido
2	Arari	Adocicado	Marrom escuro	Resinoso
3	Arari	Resinoso	Marrom escuro	Insípido
4	Arari	Adocicado	Marrom escuro	Picante
5	Arari	Adocicado	Marrom escuro	Resinoso
6	São João Batista	Adocicado	Marrom escuro	Amargo
7	São Bento	Adocicado	Marrom escuro	Amargo

Tabela 3. Rendimento do processo extrativo do extrato hidroalcoólico de geoprópolis

Amostra	Extrato seco de geoprópolis (g)	Rendimento (%)
1	1,97	1,36
2	11,80	5,83
3	2,30	1,36
4	1,95	1,53
5	12,54	1,10
6	8,44	2,04
7	20,10	2,68

Tabela 4. Teor de material inorgânico (terra) nas amostras de geoprópolis

Amostra	Município	Geoprópolis(g)	Material Inorgânico(g)	Teor da parte Inorgânica(%)
1	Arari	144,80	142,83	98,63
2	Arari	1915,00	1803,20	94,16
3	Arari	168,50	166,20	98,63
4	Arari	127,30	125,35	98,46
5	Arari	1131,90	1119,35	98,89
6	São Bento	413,00	404,56	97,95
7	São João Bento	747,70	727,60	97,30

Tabela 5. Abordagem química dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis

Amostra	Compostos Fenólicos	Triterpenos	Saponinas	Alcalóides
1	+ + +	+	+	-
2	+ + +	+	+	-
3	+ + +	-	-	-
4	+ +	-	-	-
5	+	+	+	-
6	+	+	+	-
7	+	-	-	-

Nota: (+) Presença + + + fortemente positivo
+ + positivo
+ fracamente positivo
(-) Ausência

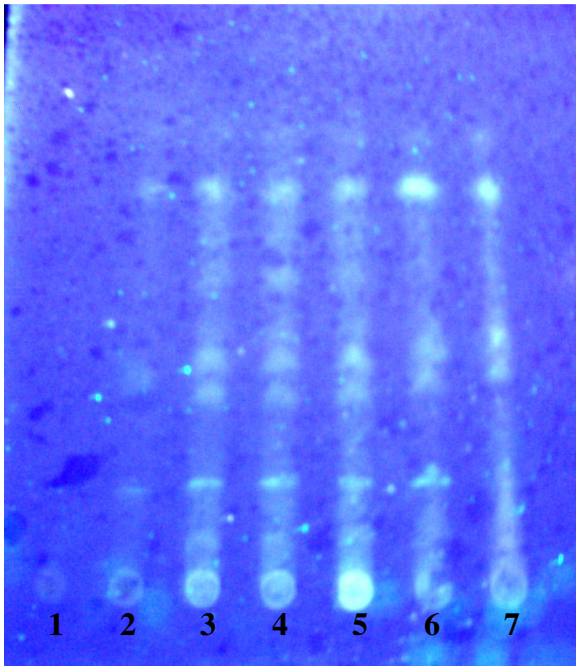

Figura 2. Cromatograma dos EHAG (1-7) de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) dos municípios da Baixada Maranhense. Alíquota aplicado: 5µL. Fase móvel:hexano/ acetato de etila 6:4; Fase estacionária: sílica gel $60F_{254 + 366}$; visualização/revelação: luz UV $_{254\ nm\ e\ 366nm}$+ solução alcoólica de $AlCl_3$1%

Tabela 6. Teor de flavonóides dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis

Amostra	Município	Flavonóides (%)[a, b]
1	Arari	1,77 ± 0,03
2	Arari	2,67 ± 0,01
3	Arari	0,17 ± 0,01
4	Arari	0,17 ± 0,01
5	Arari	1,12 ± 0,01
6	São João Batista	0,61 ± 0,01
7	São Bento	0,61 ± 0,01

[a] Resultados representam médias ± desvio padrão (n = 3)
[b] Expressos como equivalente de quercetina

3.2 Artigo

Características físico-químicas de extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) de diferentes regiões geográficas do Maranhão, Brasil

Richard Pereira Dutra [1], Alexandre Michel Costa Nogueira [1], Rodrigo René de Oliveira Marques [1], Maria Célia Pires Costa [2], Maria Nilce Sousa Ribeiro [1]*

[1] Laboratório Farmacognosia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga, 65085-580- São Luís-MA,Brasil

[2] Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão, Campus Universitário Paulo VI, 65055-970, São Luís-MA,Brasil

Endereço para correspondência:

Maria Nilce de Sousa Ribeiro

Universidade Federal do Maranhão

Laboratório de Farmacognosia

Av. dos Portugueses s/n, Campus do Bacanga

São Luís, MA. CEP: 65085-58

Tel./Fax. 55 98 21098592

*E-mail: mnribeiro@ufma.br

** E-mail: mnribeiro@ufma.br, Tel. + 55-98-21098592*

RESUMO: Na América do Sul, existem espécies de abelhas sem ferrão, da subfamília meliponinae, tribo meliponini, que coletam material resinoso das plantas, trazem para suas colméias e misturam com cera mais barro ou terra formando o geoprópolis. Dentre estas, temos *Melipona fasciculata* Smith, que ocorre no Brasil, especialmente no estado do Maranhão, conhecida popularmente como tiúba e já cultivada há séculos pela população indígena, para produção de mel, cera, pólen e geoprópolis. O objetivo deste trabalho foi estabelecer métodos de controle de qualidade para o geoprópolis e extrato hidroalcoólico de amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (tiúba), produzidas em municípios do estado do Maranhão e pertencentes às regiões da Baixada Maranhense, Cerrado meridional e Amazônia maranhense, por meio de análises sensoriais, abordagem química, teores de fenóis e flavonóides totais. Os resultados demonstram que o geoprópolis e o extrato hidroalcoólico de geoprópolis apresentam características sensoriais similares aos encontrados para *Apis mellifera*, presença de compostos fenólicos em maior concentração, além de substâncias da classe dos terpenos e saponinas e ausência de alcalóides nas amostras. Os teores de fenóis e flavonóides para a maioria das amostras apresentaram valores acima do mínimo exigido pela legislação brasileira para própolis de *Apis mellifera*. Esses dados sugerem que essas variações são afetadas pela flora visitada, pela espécie de abelha, região geográfica e fatores ambientais.
Unitermos: Geoprópolis, abelhas nativas, *Melipona fasciculata*, fenólicos, flavonóides, controle de qualidade.

ABSTRACT: "Physicochemical characteristics of the extracts geopropolis of the *Melipona fasciculata* Smith (tiuba) of different geographic regions of the Maranhão, Brazil". In South America, there are species of stingless bees without sting of the type meliponinae, tribo meliponini, that collect resinous material of the plants, bring them for her beehives and mix them with beeswax and mud or earth, producing geopropolis. Among these, there is the *Melipona fasciculata* Smith, that exists in Brazil, especially in Maranhão state, known popularly as tiuba and already produced for centuries by Maranhao indigenous population, for the production of wax, pollen and geopropolis. The aim of this work was to establish methods of quality control for the extract of geopropolis of *Melipona fasciculata* (tiuba), cultivated in municipal districts of the state of Maranhao, belonging to the areas of Baixada maranhense, southern Savannah and Maranhao's Amazonia, through a sensorial analysis, chemical approach, content of total phenols and flavonoids. The results demonstrate that geopropolis presents sensorial characteristics similar to the ones found for *Apis mellifera*, presence of phenolic compounds in larger concentration, besides substances of the class of the terpenes and saponines and absence of alkaloids in the samples. The content of phenols and flavonoids for most of the samples presented values above the minimum demanded by the Brazilian legislation for propolis of *Apis mellifera*. These data suggest that these variations are affected by the visited flora, by the bees species , geographical area and environmental factors.

Keywords: Geopropolis, Stingless bees, *Melipona fasciculata*, Flavonoids, Phenols, Control quality.

INTRODUÇÃO

Geoprópolis é um produto escuro formado por abelhas sociais, indígenas, sem ferrão (Apidae, Meliponinae, Meliponini) que coletam material resinoso das plantas e misturam com cera e barro. As abelhas sociais da família Apidae se dividem em 04 sub-famílias: Apinae, Bombinae, Euglossinae e Meliponinae. Essa última tem duas tribos, Meliponini e Trigonini. Tribo Meliponini possui um único gênero *Melipona*, com mais de 50 espécies, distribuídas na América do Sul. Dentre estas, temos *Melipona fasciculata* Smith que ocorre no Brasil, especialmente no estado do Maranhão, conhecida popularmente como tiúba e já cultivada há séculos pela população indígena, para produção de mel, cera, pólen e geoprópolis. Geoprópolis é utilizado pelas abelhas para selar as frestas da colméia, proteção e assepsia, a semelhança do uso de própolis produzido por *Apis mellifera* da sub-família Apinae (Kerr, 1987; Freire, 1995; Nogueira-Neto, 1997).

Os meliponíneos são criados comercialmente em grupamentos de colônias denominadas meliponários, constituindo a meliponicultura, uma atividade econômica em franca expansão no Brasil, especialmente na Amazônia e alguns estados brasileiros como no Maranhão (Nogueira-Neto, 1997; BNB, 2001).

Própolis e seus constituintes químicos obtidos de *Apis mellifera* exibem uma extensa variedade de propriedades farmacológicas como antiinflamatória, antimicrobiana, antioxidante, anti-neoplásica, anestésica, anticariogênica e antiviral (Ghisalberti, 1979; Bankova et al., 1989; Marcuccci, 1995; Park et al., 1998a,b; Koo et al., 1999; Da Silva et al., 2006).

Essas atividades terapêuticas são associadas com compostos fenólicos, especialmente flavonóides e ácidos fenólicos (Marcucci, 1995; Bankova et al., 1998, Marcuccci et al., 1998; Tazawa et al., 1999; Marcucci et al., 2000; Silva et al., 2005), embora alguns compostos terpênicos tenham sido implicados nas ações farmacológicas (Matsuno, 1995; Bankova et al., 1996; Pereira et al., 1999).

A literatura registra mais de 300 compostos químicos, incluindo os fenólicos e outras classes de compostos nas revisões das atividades biológicas, farmacológicas e composição química de própolis (De Castro, 2001; Almeida; Meneses, 2002; Santos et al., 2002). Diferenças significativas têm sido encontradas na composição química de amostras de própolis tropicais coletadas em diferentes localidades (Aga et al., 1994; Bankova et al., 1995; Bankova et al., 1996; Boudorova-Krasteva et al., 1997; Franco et al., 2000; Cunha et al., 2004).

Estudos químicos e farmacológicos de geoprópolis são escassos. Tomas-Barberan, et al. (1993) identificaram em amostras de geoprópolis de *Melipona compressipes* criadas na Venezuela, substâncias fenólicas, benzofenonas preniladas. Bankova, et al. (1998) identificaram mais de cinqüenta compostos principalmente fenólicos e terpenos em geoprópolis brasileiro, obtidas das abelhas *Melipona compressipes*, *Tetragona clavipes* e *Melipona quadrifasciata anthidioides*.

Trabalhos experimentais têm demonstrado que o extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* da região da Baixada maranhense tem cheiro, odor e sabor característicos, é rico em substâncias químicas das classes dos compostos fenólicos e triterpenos (Nogueira et al., 2004a,b; Dutra et al., 2005). Gomes et al. (2003) e Gomes (2005) demonstraram atividades antiinflamatória e analgésica do extrato alcoólico de geoprópolis.

Duailibe (2004) demonstrou que o uso de bochecho da solução do extrato alcoólico geoprópolis da tiúba diminuiu 48,5% o número de colônias de *Streptococcus mutans*, na saliva de pacientes, atuando como auxiliar no tratamento e na prevenção da cárie. Maciel (2005) utilizando extrato de geoprópolis observou atividade antimicrobiana *in vitro* contra patógenos orais, permitindo o uso do extrato de geoprópolis como método auxiliar no tratamento das doenças periodontais.

Popova et al. (2004) tem caracterizado a própolis de *Apis mellifera* como do tipo poplar por três parâmetros: conteúdos de flavonas e flavanois, de flavonas e dihidroflavanois e fenólicos totais. As própolis tropicais possuem alto teor de compostos fenólicos, o que permite que a sua qualidade seja classificada pela legislação brasileira pelo teor destes compostos (Brasil, 2001).

Diferente dos outros estados brasileiros, o Maranhão localiza-se numa região de transição entre a floresta amazônica, o cerrado do Planalto Central e as caatingas nordestinas. Essa posição peculiar faz com que o estado adquira grande importância do ponto de vista ecológico, pois, associado a este mosaico fitogeográfico, deve ocorrer superposição e interações de elementos faunísticos destas três macrorregiões (Rebêlo et al., 2003).

Levando-se em consideração que o estado do Maranhão apresenta um forte potencial para atividade da meliponicultura, mas sua pesquisa nesta área ainda é incipiente, este trabalho objetivou determinar a composição química e características sensoriais de geoprópolis de *Melipona fasciculata* produzidas no estado do Maranhão, como parâmetros para classificação da qualidade do produto.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta de material

As amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, foram coletadas com auxílio de espátulas esterilizadas, diretamente em meliponários localizados em diferentes localidades dos municípios da Baixada Maranhense, Cerrado meridional e Amazônia maranhense, no final da estação chuvosa e estação seca, durante os meses de julho a outubro de 2003 a 2005. Foram acondicionados isoladamente em frascos de vidro âmbar esterilizados e mantidos sob refrigeração, as quais foram codificadas de 1-18.

As amostras 1-11 foram coletadas nos municípios de Arari, Bequimão, São Bento, São João Batista e Vitória do Mearim, localizados na região da Baixada Maranhense, que apresenta vegetação de diferentes ecossistemas, como manguezais, campos inundáveis, babaçuais e florestas (Moura, 2004). As amostras 12-14 foram coletadas no município de Carolina, Cerrado Meridional Maranhense, com vegetação de cerrados e cerradões e as amostras 15-18 nos municípios de Maranhãozinho e Santa Luzia do Paruá, localizados na Amazônia Maranhense, com vegetação típica de floresta amazônica (Rebêlo et al., 2003).

Análises sensoriais

As amostras de geoprópolis após coleta foram submetidas a análises sensoriais de: aroma, cor e sabor (Marcucci, 1998; Brasil, 2001).

Preparação dos extratos orgânicos de geoprópolis

Os geoprópolis de cada localidade separadamente foram triturados em turbolizador e macerados em etanol a 70%, por 24h, filtrados para separação da parte inorgânica (terra), obtendo-se soluções hidroalcoólicas de geoprópolis, as quais foram concentradas em evaporador rotativo e seco até peso constante. Os extratos hidroalcoólicos de geoprópolis (EHAG) foram acondicionados em frascos âmbar e mantidos sob refrigeração para as posteriores análises.

Abordagem química dos EHAG

Os EHAG foram submetidos à abordagem química para verificação de compostos das classes dos fenólicos, alcalóides, terpenos e saponinas (Matos, 1997).

Determinação da concentração total de fenóis dos EHAG

A concentração de fenóis foi determinada utilizando o reagente de Folin-Cioncalteau (Merck) para formar o complexo, usando espectrofotômetro Cary 50 UV-VIS a 760 nm. Concentrações de ácido gálico (Merck) foram usadas como padrões e os resultados obtidos foram expressos como grama (g) de ácido gálico por 10 mL de extrato hidroalcoólico de geoprópolis (%) (Woisky; Salatino, 1998; Chaillou et al., 2004).

Determinação da concentração total de flavonóides dos EHAG

A concentração de flavonóides foi determinada utilizando $AlCl_3$ para formar o complexo, usando espectrofotômetro Cary 50 UV-VIS a 425 nm. Concentrações de quercetina (Merck) foram usadas como padrões e os resultados obtidos foram expressos como grama (g) de quercetina por 10 mL de extrato hidroalcoólico de geoprópolis (%) (Woisky; Salatino, 1998; Chaillou et al., 2004; Funari; Ferro, 2006).

Análise Estatística

Todas as análises espectrofotométricas foram realizadas em triplicatas. Com esses resultados foi feita Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas (Newman-Keuls) utilizando o software Graph Pad Prism, versão 4.03, tomando-se o valor de $p \leq 0,05$ como nível máximo de significância estatística (Sokal; Rohlf, 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de geoprópolis apresentaram-se como fragmentos rígidos de diferentes tamanhos, com granulometria heterogênea, inodoros em sua maioria, cor marrom escuro e sabor amargo entre as amostras analisadas. Por sua vez as amostras 6, 8 e 9 apresentaram odor balsâmico. Observou-se que a predominância de terra no geoprópolis dificulta uma diferenciação sensorial entre as amostras analisadas.

Os resultados das análises sensoriais dos EHAG indicam que todas as amostras apresentaram coloração marrom escuro, com exceção dos extratos 6 e 12 com coloração marrom apenas, sabor amargo, exceto os extratos das amostras 1-7 que variaram de insípido a resinoso, o odor variou de resinoso a adocicado, tendo os extratos das amostras 6, 8 e 9 odor balsâmico, o extrato das amostras 10 e 12 odor adocicado, enquanto os extratos de 13-18 apresentaram odor resinoso, conforme Tabela 1.

As análises sensoriais são importantes, pois podem indicar características físico-químicas das amostras, permitindo prever a qualidade do material.

A abordagem química dos EHAG indicou a presença de substâncias da classe dos compostos fenólicos, triterpenos e saponinas (Tabela 2) predominando maior concentração de compostos fenólicos nos extratos 1- 4, 8, 9, 11, 13-18, e os extratos 5, 6, 7, 10 e 12 apresentaram reação fracamente positiva para essa mesma classe. O extrato 12 apresentou somente compostos fenólicos e terpenos. Enquanto os extratos 3, 4, 6 e 7 apresentaram resultado negativo para triterpenos e saponinas. Todas as amostras apresentaram ausência de substâncias pertencentes à classe dos alcalóides. Substâncias fenólicas estão presentes em própolis de *Apis mellifera* (Greenaway et al., 1990; Marcucci et al., 1998; Woisky; Salatino 1998; Bankova et al., 2000) e em geoprópolis brasileira das abelhas *Melipona compressipes*, *Tetragona clavipes* e *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Tomas-Barberan et al., 1993; Bankova et al., 1998).

Os teores de fenóis totais encontrados nas amostras analisadas variaram de 1,77-31,84% (Tabela 3), com um conteúdo médio de 14,56%. Woisky (1996), encontraram entre 8,78-13,72% de compostos fenólicos em própolis de *Apis mellifera* coletada em diferentes regiões do estado de São Paulo. Bonvehí; Coll (1994) encontraram 18,72% de substâncias fenólicas em amostras de própolis brasileira. Chaillou et al. (2004) utilizando própolis de *Apis mellifera* coletadas em diferentes regiões da Argentina encontrou uma variação de 4,25-25,26% de compostos fenólicos, com um conteúdo médio de 15,91%. Os EHAG (72,2%) superam o valor mínimo de 5% de fenóis totais, estabelecido na legislação brasileira para qualidade de própolis de *Apis mellifera*.

Os teores de flavonóides encontrados nos extratos variaram de 0,17-6,0% (Tabela 4). Os EHAG 2, 6, 8, 11, 13, 15-18 apresentaram teores de flavonóides acima de 2% que permitem classificá-los, de acordo com a legislação brasileira como própolis como alto teor de flavonóides. Dos extratos analisados, 88,9% superam o valor mínimo de 0,25% flavonóides totais, estabelecido para extratos hidroalcoólicos de própolis na referida legislação (Woisky; Salatino 1998; Brasil, 2001; Funari; Ferro, 2006).

Os resultados estatísticos para os teores de fenóis apresentaram diferenças significativas ($p < 0,001$) entre os EHAG de um mesmo município, com exceção das amostras 3 e 4. A análise dos dados por região geográfica não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) para os teores de fenóis entre os EHAG 1-5, 6 e 7-9; 11 e 17-18. Os teores de flavonóides apresentaram diferenças significativas ($p < 0,001$) entre os EHAG de um mesmo município, com exceção das amostras 3 e 4. Os resultados também sugerem que não existe diferença significante ($p > 0,05$) entre os EHAG 15-18, pertencentes à região da Amazônia maranhense.

A variação qualitativa e quantitativa de compostos fenólicos e flavonóides em própolis são fortemente afetadas pela flora visitada pelas abelhas, região geográfica e fatores climáticos (Bankova et al., 2002; Teixeira et al., 2003; Bankova, 2005; Gomes-Caravaca et al., 2006). Considerando que as amostras de geoprópolis foram coletadas em meliponários localizadas em municípios do estado do Maranhão formados por vegetações de diferentes ecossistemas tais como litoral atlântico, reentrâncias, manguezais, lagoas, terras alagadas, terrenos altos com capoeiras, babaçuais, floresta amazônica e cerrado, supomos que as associações da origem botânicas aos fatores climáticos do local de produção implicam em diferenças, tanto no aspecto qualitativo quanto quantitativo da composição do produto final.

Preparações de própolis com alto teor de flavonóides são vendidas a preços mais altos e têm mercado externo garantido (Da Silva et al., 2006). Os extratos de geoprópolis apresentam valores de polifenóis semelhantes aos de própolis de *Apis mellifera,* demonstrando a potencialidade do produto. Os teores de fenóis e flavonóides dos extratos hidroalcoólicos de *Melipona fasciculata* (tiúba), permitem demonstrar a caracterização química do produto, base para estabelecer um perfil de garantia de qualidade para o mesmo.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro (Proc n° CNPq/UEMA 5507387/01-0) e bolsa de Iniciação Cientifica para Alexandre M. C. Nogueira. À FAPEMA pela bolsa de mestrado de Richard Pereira Dutra. A Central Analítica do Departamento de Química/ UFMA pelo uso do espectrofotômetro UV-VIS.

REFERÊNCIAS

Aga H, Shibuya T, Sugimoto T, Kurimoto M, Nakajima SH 1994. Isolation and identification of antimicrobial compounds in brazilian propolis. *Biosc Biotechnol Biomch 58*: 945-946.

Almeida EC, Menezes H 2002. Anti-inflammatory activity of propolis extracts: a review. *J Venom Anim Toxins 8*: 191-212.

Bankova V, Popov S, Marekov NL 1989. Isopentenyl cinnamates from poplar buds and propolis. *Phytochemistry 28*: 871-873.

Bankova V, Chistov R, Stoev G, Popov S 1995. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. *Z Naturforschung 50*: 167-172.

Bankova V, Marcucci MC, Simova S, Nikolova N, Kujumgiev A, Popov S 1996. Antibacterial diterpenic acids from Brazilian própolis. *Z Naturforschung 51*: 277-280.

Bankova V, Christov R, Marcucci MC, Popov S 1998. Constituents of brazilian geopropolis. *Z Naturforschung 53*: 402-406.

Bankova V, Castro SL, Marcucci MC 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie 31*: 3–15.

Bankova V, Popova M, Bogdanov S, Sabatini AG 2002. Chemical composition of European própolis: expected and unexpected results. *Z Naturforschung 57*:530-533.

Bankova V 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol 100*: 114-117.

BNB 2001. Diversificação da produção Apícola. Palestra proferida no lançamento do programa de desenvolvimento da apicultura do Estado do Maranhão. Banco do Nordeste, São Luís, Brasil.

Bonvehí JS, Coll FV 1994. Phenolic composition of propolis from China and South America. *Z Naturforschung 49*: 712-718.

Boudourova-Krasteva G, Bankova V, Sforcin JM, Nikolova N, Popov S 1997. Phenolics from brazilian propolis. *Z Naturforschung 52*: 676–679.

Brasil 2001. Ministério de Agricultura e do Abastecimento. Instrução normativa nº 3 – Anexo VI – Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil. Brasília, Brasil.

Chaillou LL, Herrera HA, Maidana JF 2004. Estudo de própolis de Santiago Del Estero, Argentina. *Ciên Tecnol Aliment 24*: 11-15.

Cunha IBS, Sawaya ACHF, Caetano FM, Shimizu MT, Marcucci MC, Drezza FT, Povia GS, Carvalho PO 2004. Factors that influence the yield and composition of brazilian propolis extracts. *J Braz Chem Soc 15*: 964-970.

Da Silva JFM, Souza MC, Matta SR, Andrade MR, Vidal FVN 2006. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem 99*: 431-435.

De Castro JFM, Sousa MC, Matta SR, Andrade MR, Vidal FVN 2006. Correlation analysis between phenolic levels of brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem 99*: 431-435.

Dualibe SAC 2004. Efeito do extrato de própolis na contagem de *Streptococcus mutans* da cavidade oral. São Luís, 73p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão.

Dutra RP, Nogueira AMC, Costa MCP, Ribeiro MNS 2005. Avaliação farmacognóstica do geoprópolis de tiúba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith) em municípios do Maranhão. *V Simpósio Brasileiro de Farmacognosia*. Recife, Brasil.

Franco SL, Bruschi ML, Moura LPP, Bueno JHF 2000. Avaliação farmacognóstica da própolis da região de Maringá. *Rev Bras Farmacogn 9/10*: 1-10.

Freire SS 1995. Meliponicultura racional no Nordeste e na Amazônia brasileira. *XLVII Reunião Anual da SBPC*. São Luís, Brasil.

Funari CS, FerroVO 2006. Análise de própolis. *Ciên Tecnol Aliment 26*: 171-178.

Ghisalberti EL 1979. Propolis: A review. *Bee World 60*: 59-84.

Gómez-Caravaca AM, Gómez-Romero M, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmacol Biom Anal 41*: 1220-1234.

Gomes VA, Nogueira AMC, Marques EC, Santana ER, Barros FER, Borges MOR, Borges ACR, Ribeiro MNS 2003. Estudos das atividades antiinflamatórias e antinociceptiva da própolis de *Melipona compressipes fasciculata* Smith (tiúba). *XV Seminário de Iniciação Científica*. São Luís, Brasil.

Gomes VA 2005. *Estudo da atividade farmacológica do extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba.* São Luís, 48p. Monografia – Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Maranhão.

Greenaway W, Scaysbrook T, Whatley FR 1990. The composition and plant origins of propolis. *Bee World 71*: 107-118.

Kerr W 1987. Abelhas indígenas brasileiras (meliponíneos) na polinização e na produção de mel, pólen, geoprópolis e cera. *Inf Agropec 13*: 15-27.

Koo H, Park YK, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL 1999. Effect of *Apis mellifera* própolis from two Brazilian regions on caries development in desalivated rats. *Caries Res 33*: 393-400.

Maciel AAB 2005. Atividade antimicrobiana da própolis e geoprópolis contra periodontopatógenos. São Luís, 34p. Monografia – Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão.

Marcucci MC 1995. Própolis: a chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie 26*: 83-99.

Marcucci MC, Rodriguez J, Ferreres F, Bankova V, Groto R, Popov S 1998. Chemical composition of brazilian própolis from são Paulo State. *Z Naturforsch* 53: 117-119.

Marcucci MC, Ferreres F, Custodio AR, Ferreira M MC, Bankova V, Garcia-Vigueira C, Bretz WA 2000. Evalution of phenolic compounds in Brazilian propolis from diferente geografic regions. *Z Naturforsch 55*: 76-81.

Matos FJA 1997. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. Fortaleza: Edições UFC.

Matsuno T 1995. A New clerodane diterpenoid isolated from própolis. *Z Naturforsch 50:* 93-97.

Moura EG 2004. *Agroambientes de Transição: entre o trópico úmido e o semi-árido do Brasil*. São Luís: UEMA.

Nogueira AMC, Matos RRO, Costa MCP, Ribeiro MNS 2004a. Própolis da tiúba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith): aspectos químicos e físico-químicos. *LVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira Progresso da Ciência*. Brasília, Brasil.

Nogueira AMC, Matos RRO, Gomes VA, Ribeiro MNS, Borges MO R, Borges ACR, Costa MCP 2004b. Química e farmacologia de geoprópolis da tiúba. *IV Reunião Regional da SBPC*. São Luís, Brasil.

Nogueira AMC 2005. Determinação de caracteres físicos, químicos e físico-químicos do geoprópolis de Melipona compressipes fasciculata Smith (tiúba). São Luís, 57p. Monografia – Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Maranhão.

Nogueira-Neto P 1997. *A vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão (Meliponinae)*. SãoPaulo: Nogueirapes.

Park YK, Koo H, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL, Abreu JAS 1998a. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Cur Microbiol 34*: 24 -28.

Park YK, Koo H, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL, Abreu JAS 1998b. Effect of propolis on *Streptococcus mutans*, *Actinomyces naeslundii* and *Staphylococcus aureus*. *Rev Microbiol 29*: 143-148.

Pereira AS, Da Silva JFM, Kiltzke R, Cardoso JN, De Aquino Neto FR 1999. Pentacyclic triterpenoid alkanoates in propolis. *Z Naturforsch 54*: 1115-1118.

Popova M, Bankova V, Butovska D, Petkov V, Nikolova-Damyanova B, Sabatini AG 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochemical Anal 15*: 235–240.

Rebêlo JMM, Rego MMC, Albuquerque PMC 2003. Abelhas (Hymenoptera, Apoidea) da região setentrional de Estado do Maranhão. In: Melo GAR; Alves-dos-Santos I *Apoidea Neotrapical: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure*. Criciúma: Editora UNESC, p. 265-278.

Santos FA, Bastos EMA, Uzeda M, Carvalho MAR, Farias LM, Moreira ESA, Braga FC 2002. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria: a review. *J Ethnopharmacol 80*: 1-7.

Silva MSS, Cito AMGL, Chaves MH, Lopes JAD 2005. Triterpenóides tipo cicloartano de própolis de Teresina –PI. *Quím Nova 28*: 801-804.

Sokal RR, Rohlf FJ 1996. Biometry: The principle and practice of statistics. Biological Research. 2 ed. New York: W. H. Freeman and company.

Tazawa S, Warashina T, Noro T 1999. Studies on the chemical constituents of Brazilian propolis. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin 47*: 1388–1392.

Teixeira EW, Message D, Meira RMSA, Salatino A 2003. Indicadores da origem botânica da própolis: Importância e perspectivas. *B Indústr Anim 60*: 83-106.

Tomas-Barberan FA, Garcia-Viguera C, Vit-Olivier P, Ferreres F, Tomas-Lorente F 1993. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical from Venezuela. *Phytochemistry 34*: 191-196.

Woisky RGR 1996. Métodos de Controle Químico de Amostras de Própolis. São Paulo, 74p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Fármacos e Medicamentos, Universidade de São Paulo.

Woisky RGR, Salatino A 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J Apic Res 37*: 99-105.

Tabela 1. Características sensoriais dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis

	Amostra	Município	Cor	Aroma	Sabor
Baixada Maranhense	1	Arari	Marrom Escuro	Resinoso	Insípido
	2	Arari	Marrom Escuro	Adocicado	Resinoso
	3	Arari	Marrom Escuro	Resinoso	Insípido
	4	Arari	Marrom Escuro	Adocicado	Picante
	5	Arari	Marrom Escuro	Adocicado	Resinoso
	6	Bequimão	Marrom	Balsâmico	Amargo
	7	São Bento	Marrom Escuro	Adocicado	Resinoso
	8	São Bento	Marrom Escuro	Balsâmico	Amargo
	9	São Bento	Marrom Escuro	Balsâmico	Amargo
	10	São João Batista	Marrom Escuro	Adocicado	Amargo
	11	Vitória do Mearim	Marrom Escuro	Resinoso	Amargo
Cerrado Meridional	12	Carolina	Marrom	Adocicado	Amargo
	13	Carolina	Marrom Escuro	Resinoso	Amargo
	14	Carolina	Marrom Escuro	Resinoso	Amargo
Amazônia Maranhense	15	Maranhãozinho	Marrom Escuro	Resinoso	Amargo
	16	Maranhãozinho	Marrom Escuro	Resinoso	Amargo
	17	Santa L. do Paruá	Marrom Escuro	Resinoso	Amargo
	18	Santa L. do Paruá	Marrom Escuro	Resinoso	Amargo

Tabela 2. Abordagem química dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis

	Amostra	Município	Compostos Fenólicos	Triterpenos	Saponinas	Alcalóides
Baixada Maranhense	1	Arari	+ + +	+	+	-
	2	Arari	+ + +	+	+	-
	3	Arari	+ + +	-	-	-
	4	Arari	+ +	-	-	-
	5	Arari	+	+	+	-
	6	Bequimão	+	-	-	-
	7	São Bento	+	-	-	-
	8	São Bento	+ +	+	+	-
	9	São Bento	+ + +	+	+	-
	10	São João Batista	+	+	+	-
	11	Vitória do Mearim	+ + +	+ +	+ +	-
Cerrado Meridional	12	Carolina	+	+	-	-
	13	Carolina	+ + +	+ + +	+	-
	14	Carolina	+ + +	+ + +	+	-
Amazônia Maranhense	15	Maranhaozinho	+ + +	+ +	+ +	-
	16	Maranhaozinho	+ + +	+ +	+ +	-
	17	Santa L. do Paruá	+ + +	+ +	+ +	-
	18	Santa L. do Paruá	+ + +	+ +	+ +	-

Nota: (+) Presença + + + fortemente positivo
+ + positivo
+ fracamente positivo
(-) Ausência

Tabela 3. Concentração de fenólicos e flavonóides em geoprópolis de tiúba

	Amostra	Município	Fenólicos (%)[a, b]	Flavonóides (%)[a, c]
Baixada Maranhense	1	Arari	18,71 ± 0,61	1,77 ± 0,03
	2	Arari	20,26 ± 0,81	2,67 ± 0,01
	3	Arari	1,89 ± 0,05	0,17 ± 0,01
	4	Arari	1,77 ± 0,15	0,17 ± 0,01
	5	Arari	6,50 ± 0,28	1,12 ± 0,01
	6	Bequimão	9,13 ± 0,79	6,00 ± 0,03
	7	São Bento	3,43 ± 0,16	0,61 ± 0,01
	8	São Bento	8,07 ± 0,10	3,20 ± 0,07
	9	São Bento	17,22 ± 0,45	1,72 ± 0,07
	10	São João Batista	3,10 ± 0,17	0,61 ± 0,01
	11	Vitória do Mearim	22,51 ± 0,72	2,45 ± 0,06
Cerrado Meridional	12	Carolina	2,97 ± 0,16	0,51 ± 0,00
	13	Carolina	31,84 ± 0,42	2,59 ± 0,07
	14	Carolina	13,16 ± 0,18	1,26 ± 0,01
Amazônia Maranhense	15	Maranhãozinho	30,10 ± 0,21	2,46 ± 0,06
	16	Maranhãozinho	24,33 ± 0,28	2,71 ± 0,05
	17	Santa L. do Paruá	28,03 ± 0,65	2,92 ± 0,16
	18	Santa L. do Paruá	19,17 ± 0,72	2,28 ± 0,04

[a] Resultados representam médias ± desvio padrão (n = 3)
[b] Expressos como equivalente de ácido gálico
[c] Expressos como equivalente de quercetina

4. CONCLUSÃO

As análises sensoriais dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis de tiúba cultivadas em diferentes municípios do estado do Maranhão apresentaram aroma, cor e sabor similar às encontradas para própolis de *Apis mellifera.* Os rendimentos dos processos extrativos variaram de 1,10% a 5,83%. Os resultados das abordagens químicas permitiram detectar a presença de substâncias da classe dos compostos fenólicos, terpenos e saponinas, predominando maior concentração de compostos fenólicos. Substâncias da classe dos alcalóides estão ausentes em todas as amostras analisadas. Os perfis cromatográficos dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis indicam composição e concentração química diferentes entre as amostras, sugerindo que a vegetação visitada pelas abelhas são diferentes. Os teores de fenóis (1,77 – 31,84%) e flavonóides (0,17 – 6,0%) encontrados permitem concluir que o extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba apresenta valores muito próximos dos encontrados para o extrato de própolis de *Apis mellifera,* cultivado no território brasileiro. Os resultados obtidos neste trabalho permitem estabelecer caracteres físicos, físico-químicos e químicos para o perfil de qualidade do extrato hidroalcoólico do geoprópolis de tiúba, fundamentais para a padronização deste produto natural.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos através da quantificação dos teores de fenóis e flavonóides totais do extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) criadas no estado do Maranhão permitem indicar um perfil de qualidade do geoprópolis, como de alto teor de compostos fenólicos. Até o presente momento não há legislação brasileira especifica para a classificação de qualidade de geoprópolis, há necessidade de se conhecer mais esses parâmetros em diferentes amostras para que futuramente tenhamos uma legislação especifica para geoprópolis e derivados.

Para a determinação da qualidade do geoprópolis e seus derivados, o conhecimento dos teores fenóis e flavonóides são imprescindíveis, e uma das técnicas mais utilizadas e apropriadas para essa determinação são as determinações espectrofotométricas, que realizamos. Técnica essa, simples e rápida que pode ser utilizada em análises de rotina para emissão de laudos de controle de qualidade química para geoprópolis e seus produtos.

Análises por métodos cromatográficos, utilizando cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), com respectivos padrões químicos, agiliza o conhecimento da qualificação e quantificação desses compostos químicos. A parceria UFMA/UEMA/BNB adquiriu o respectivo equipamento, o qual está em fase de instalação, o que agilizará o conhecimento da composição química desse produto natural.

Esses resultados demonstram a necessidade de manutenção da biodiversidade florística, a preservação das abelhas nativas, como polinizadoras de nossas fanerógamas, produtoras de alimento, para promoção do desenvolvimento da agricultura familiar no estado do Maranhão, através do cultivo de abelhas, e permitindo uma maior renda para famílias de produtores rurais.

6. REFERÊNCIAS

Ackermann T 1991. Fast chromatography study of propolis crudes. *Food Chem 42*: 135-138.

Bankova V, Popov S, Marekov NL 1989. Isopentenyl cinnamates from poplar buds and propolis. *Phytochemistry 28*: 871-873.

Bankova V, Christov R, Marcucci MC, Popov S 1998. Constituents of brazilian geopropolis. *Z. Naturforsch 53*: 402-406.

Bankova V 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol 100*: 114-117.

BNB 2001. Diversificação da produção Apícola. Palestra proferida no lançamento do programa de desenvolvimento da apicultura do Estado do Maranhão. Banco do Nordeste, São Luís, Brasil.

Burdock GA 1998. Review of the biological properties and toxicology at bee própolis. *Food Chem Toxicol 36*: 347-363.

Dualibe SAC 2004. *Efeito do extrato de própolis na contagem de Streptococcus mutans da cavidade oral*. São Luís, 73p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão.

Dutra RP, Nogueira AMC, Costa MCP, Ribeiro MNS 2005. Avaliação farmacognóstica do geoprópolis de tiúba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith) em municípios do Maranhão. *V Simpósio Brasileiro de Farmacognosia*. Recife, Brasil.

Freire SS 1995. Meliponicultura racional no Nordeste e na Amazônia brasileira. *XLVII Reunião Anual da SBPC*. São Luís, Brasil.

Ghisalberti EL 1979. Propolis: a review. *Bee World 60*: 59-84.

Gomes VA, Nogueira AMC, Marques EC, Santana ER, Barros FER, Borges MOR, Borges ACR, Ribeiro MNS 2003. Estudos das atividades antiinflamatórias e antinociceptiva da própolis de *Melipona compressipes fasciculata* Smith (tiúba). *XV Seminário de Iniciação Científica*. São Luís, Brasil.

Gomes VA, Borges MOR 2004. Estudos das atividades antiinflamatórias e antinociceptiva da própolis de *Melipona compressipes fasciculata* Smith (tiúba). *Cadernos de Pesquisa da UFMA 15*: (supl ½), 17.

Gomes VA 2005. *Estudo da atividade farmacológica do extrato hidroalcoólico de geoprópolis de tiúba.* São Luís, 48p. Monografia – Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Maranhão.

Kerr W 1987. Abelhas indígenas brasileiras (meliponíneos) na polinização e na produção de mel, pólen, geoprópolis e cera. *Inform Agropec 13*: 15-27.

Koening B 1985. Plant sources of propolis. *Bee world 66*: 136-139.

Koo H, Park YK, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL 1999. Effect of *Apis mellifera* propolis from two Brazilian regions on caries development in desalivated rats. *Caries Res 33*: 393-400.

Maciel AAB 2005. *Atividade antimicrobiana da própolis e geoprópolis contra periodontopatógenos*. São Luís, 34p. Monografia – Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão.

Marcucci MC 1995. Própolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie 26*: 83-99.

Marcucci MC, Ferreres F, Garcia-Vigueira C, Bankova VS, De Castro SL, Dantas AP, Valente PHM, Paulino N 2001. Phenolic compounds from Brasilian própolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol 74*: 105-112.

Nogueira AMC, Matos RRO, Costa MCP, Ribeiro MNS 2004. Própolis da tiúba (*Melipona compressipes fasciculata Smith*): aspectos químicos e físico-químicos. *LVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira Progresso da Ciência*. Brasília, Brasil.

Nogueira AMC 2005. *Determinação de caracteres físicos, químicos e físico-químicos do geoprópolis de Melipona compressipes fasciculata Smith (tiúba).* São Luís, 57p. Monografia – Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Maranhão.

Nogueira-Neto P 1997. *A vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão (Meliponinae)*. São Paulo: Nogueirapes.

Park YK, Koo H, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL, Abreu JAS 1998a. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Cur Microbiol 34*: 24 -28.

Park YK, Koo H, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL, Abreu JAS 1998b. Effect of propolis on *Streptococcus mutans, Actinomyces naeslundii and Staphylococcus aureus*. *Rev Microbiol 29*: 143-148.

Pereira AS, Seixas FRM, Aquino Neto FR 2002. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. *Quim Nova 25:* 321-326.

Teixeira EW, Negri G, Meira RMSA, Message D, Salatino A 2005. Plant oringin of green própolis: bee behavior, plant anatomy and chemistry. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine 2*: 85-92.

Tomas-Barberan FA, Garcia-Viguera C, Vit-Olivier P, Ferreres F, Tomas-Lorente F 1993. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical from Venezuela. *Phytochemistry. 34*: 191-196.

ANEXOS

ANEXO VI

REGULAMENTO TÉCNICO PARA FIXAÇÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE PRÓPOLIS

1. Alcance

1.1. Objetivo: Estabelecer a identidade e os requisitos mínimos de qualidade a que deve atender a Própolis.

1.2. Âmbito de Aplicação: O presente Regulamento refere-se à Própolis destinada ao comércio nacional ou internacional.

2. Descrição

2.1. Definição: Entende-se por Própolis o produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, colhidas pelas abelhas, de brotos, flores e exsudados de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto.

2.2. Classificação:

2.2.1 Quanto ao teor de flavonóides:

2.2.1.1. A própolis será classificada em:

- Baixo teor: até 1,0 % (m/m);- Médio teor: >1,0% - 2,0 % (m/m);

- Alto teor: >2,0 % (m/m).

2.3. Designação (Denominação de Venda): Própolis.

3. Referências:

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Normas ABNT. Plano de Amostragem e Procedimentos na Inspeção por atributos- 03.011 - NBR 5426 - JAN/1985.

- AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Analitical Chemists. Arlington, , 1992.

- AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Analitical Chemists, 16 th Edition, cap. 4.1.03, 1995.

- ASIS, M. Propoleo - El Oro Purpura de las Abejas. Cuba, 1989.

- BRASIL. Código de Defesa do Consumidor. Lei n0 8.078, de 11 de Setembro de 1990.

- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº 368, de 04/09/97 - Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos, 1997.

- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Resolução GMC 36/93 - Mercosul, Portaria nº. 371, de 04/09/97 - Regulamento técnico para Rotulagem de Alimentos.

- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria 001, de 07 de outubro de 1981. Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes: Métodos Físico-Químicos, Cap. 2, p. 3, met. 3, 1981.

- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Programa Nacional de Controle de Resíduos Biológicos. Instrução Normativa n. 3 de 22 de Janeiro de 1999.

- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria 248, de 30 de dezembro de 1998, publicada no DOU de 05 de janeiro de 1999. Estabelece o Método Oficial para Detecção de Paenibacillus larvae em Mel e Produtos Apícolas.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Padrões Microbiológicos. Portaria nº 451, de 19/09/97 - Publicada no DOU de 02/07/98.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997 - Publicada no DOU de 28 de outubro de 1997. Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego.

- BRASIL. RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto n0 30.691, de 29 de março de 1952.

- FAO/OMS. Organización de las Naciones unidas para la Agricultura y la Alimentacíon. Codex Alimentarius, CAC/vol. A, 1985.

- Farmacopéia Brasileira, 4ª Edição, p. 988, 1977 (Método Modificado).

- ICMSF - Microorganismus in foods. 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. University of Toronto. Press, 1974.

- ICMSF. Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods, 1992.

- WOISKY, R.G.R. Métodos de Controles químicos de Amostras de Própolis. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, 1996.

4. Composição e Requisitos

4.1. Composição: A Própolis compõem-se basicamente de resinas, produtos balsâmicos, cera, óleos essenciais, pólen e microelementos.

4.2. Características Sensoriais:

4.2.1. Aroma: característico (balsâmico e resinoso) dependendo da origem botânica;

4.2.2. Cor: amarelada, parda, esverdeada, marrom e outras, variando conforme a origem botânica;

4.2.3. Sabor: característico de suave balsâmico a forte e picante, dependendo da origem botânica;

4.2.4. Consistência (à temperatura ambiente): maleável a rígida, dependendo da origem botânica;

4.2.5. Granulometria: heterogênea.

4.3. Requisitos físico-químicos:

4.3.1. Perda por dessecação: máximo de 8 % (m/m);

4.3.2. Cinzas: máximo de 5% (m/m);

4.3.3. Cera: máximo de 25 % (m/m);

4.3.4. Compostos Fenólicos: mínimo 5 % (m/m);

4.3.5. Flavonóides: mínimo de 0,5 % (m/m);

4.3.6. Atividade de oxidação: máximo de 22 segundos;

4.3.7. Massa Mecânica : máximo 40% (m/m);

4.3.8. Solúveis em Etanol : mínimo de 35% (m/m).

4.4. Provas Qualitativas:

4.4.1. Espectro de Absorção de Radiações Ultravioleta e Visível - a própolis deverá apresentar picos característicos das principais classes de flavonóides entre 200 e 400 nm;

4.4.2. Acetato de chumbo - Positivo;

4.4.3. Hidróxido de Sódio - Positivo.

4.4. Acondicionamento: O produto deverá ser embalado com materiais adequados para as condições de armazenamento e que lhe confiram uma proteção apropriada contra a contaminação.

5. Aditivos

Não se autoriza.

6. Contaminantes

Os contaminantes orgânicos e inorgânicos não devem estar presentes em quantidades superiores aos limites estabelecidos pelo Regulamento específico.

6.1. Outros contaminantes: Pesquisa de esporos de Paenibacillus larvae em 25g de própolis (utilizando a metodologia descrita na Portaria 248, de 30/12/1998). Resultado Aceitável: ausência de esporos em 25g.

7. Higiene

7.1. Considerações Gerais: As práticas de higiene para elaboração do produto devem estar de acordo com o estabelecido na Portaria nº 368, de 04/09/97 - Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos - Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasil.

7.2. Critérios Macroscópicos e Microscópicos: O produto não deve conter substâncias estranhas, com exceção dos fragmentos, acidentalmente presentes, de: abelhas, madeira, vegetais e outros, inerentes ao processo de obtenção da própolis pelas abelhas.

Nota: Os critérios de tolerância, macro e microscópicos, serão estabelecidos em regulamento específico.

7.3. Critérios Microbiológicos: Aplica-se o Regulamento Específico.

8. Pesos e Medidas

Aplica-se o Regulamento específico.

9. Rotulagem

Aplica-se o Regulamento específico.

10. Métodos de Análise

Farmacopéia Brasileira 4ª Edição - 1988 - V 2.9 e V 2.10.

Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produto de Origem Animal e seus Ingredientes. Portaria nº 001/81 - 07/10/1981. Ministério da Agricultura e do Abastecimento.

Metodologias validadas pelo Ministério da Agricultura.

Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos. Pesquisa de Paenibacillus larvae em mel e produtos apícolas. Portaria 248 - 30/12/1998. Ministério da Agricultura e do Abastecimento.

11. Amostragem

Seguem-se os procedimentos recomendados na norma vigente.

Revista Brasileira de Farmacognosia
Brazilian Journal of Pharmacognosy
16(1): Jan./Mar. 2006

Normas para publicação de manuscritos na Revista Brasileira de Farmacognosia
www.farmacognosia.ufpr.br/RBF.htm
www.sbfgnosia.org.br

A Revista Brasileira de Farmacognosia (Brazilian Journal of Pharmacognosy) é um periódico destinado à publicação de trabalhos científicos originais, artigos de revisão e divulgação no campo da Farmacognosia ("O estudo dos produtos naturais biologicamente ativos").

1. NORMAS GERAIS

1.1 Todos os manuscritos submetidos devem ser inéditos. A publicação simultânea de manuscritos descrevendo o mesmo trabalho em diferentes periódicos não é aceitável. Os direitos de publicação passam a ser da Revista Brasileira Farmacognosia, inclusive traduções; publicações subseqüentes são aceitas desde que citada a fonte.
1.2 A Revista Brasileira Farmacognosia recebe para publicação trabalhos científicos originais, revisões e divulgações escritos em Português, Espanhol ou Inglês. O conteúdo dos trabalhos é de total responsabilidade do(s) autor(es), e não reflete necessariamente a opinião do Editor Chefe ou dos membros do Conselho Editorial.
1.3 A Revista Brasileira de Farmacognosia submeterá todos os manuscritos recebidos à análise de consultores *ad hoc*, cujos nomes permanecerão em sigilo e que terão a autoridade para decidir sobre a pertinência de sua aceitação, podendo inclusive, reapresentá-los ao(s) autor(es) com sugestões para que sejam feitas alterações necessárias e/ou para que os mesmos sejam adequados às normas editoriais da revista.
1.4 Toda idéia e conclusão apresentadas nos trabalhos publicados são de total responsabilidade do(s) autor(es), e não reflete necessariamente a opinião do Editor Chefe ou dos membros do Conselho Editorial.
1.5 Todos artigos envolvendo estudos com humanos ou animais deverão ter Pareceres dos Comitês de Ética de Pesquisa em Seres Humanos ou em Animais das instituições a que pertencem os autores, autorizando tais estudos.
1.6 Todo material vegetal utilizado na pesquisa descrita no trabalho deve ter a indicação do seu local de coleta (inclusive coordenadas obtidas por GPS, se possível), o país de origem, o responsável pela identificação da espécie e a localização da exsicata. Os autores devem estar preparados para fornecer evidência documental de que a aprovação para a coleta foi concedida pela autoridade apropriada no país de origem.

2. NORMAS PARA A ELABORAÇÃO DAS CONTRIBUIÇÕES

2.1 Os autores devem manter uma cópia (eletrônica e impressa) do manuscrito submetido, para o caso de possível perda ou danos causados ao original enviado à revista.
2.2 As Figuras (fotografias, gráficos, desenhos, etc.) deverão ser apresentadas em folhas separadas e numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. As respectivas legendas deverão ser claras, concisas, sem abreviaturas e localizadas abaixo das figuras. Suas respectivas posições no texto deverão ser indicadas, preferentemente, logo após sua citação no corpo do trabalho. No caso de fotografias ou desenhos feitos a mão livre, estes deverão ser colocados em envelopes à parte, em perfeito estado e devidamente identificados no verso, a lápis.
2.3 As Tabelas e os Quadros deverão ser apresentados em folhas separadas e numerados consecutivamente em algarismos arábicos. As tabelas (dados numéricos) não podem ser fechadas por linhas laterais. As respectivas legendas deverão ser claras, concisas, sem abreviaturas e localizadas na parte superior dos mesmos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto, onde as tabelas e os quadros serão intercalados, preferentemente, logo após sua citação no corpo do trabalho.

3. FORMATAÇÃO DO TEXTO E CONTEÚDO DO TRABALHO

3.1 Os originais deverão ser redigidos e digitados em folhas de papel tamanho A4 ou carta, espaço duplo, fonte tipo Times New Roman, tamanho 12, com texto justificado, margem de 2cm em cada um dos quatro lados, e perfazendo o total de, no máximo, 15 e, no mínimo, 5 páginas, incluindo figuras, tabelas e quadros.
3.2 Título e subtítulo: Deverão estar de acordo com o conteúdo do trabalho, levando em conta o âmbito e objetivos da Revista. Estes deverão estar escritos em caixa baixa, negritados, fonte tipo Times New Roman, tamanho 14. Para os trabalhos redigidos nas línguas Portuguesa e Espanhola, providenciar também versão do título para a língua Inglesa, o qual acompanhará o Abstract.
3.3 Autores: Os nomes dos autores devem vir abaixo do título, centralizados. O nome e os sobrenomes devem aparecer na ordem correta, sendo obrigatório que o primeiro (nome) e o último (sobrenome) apareçam por extenso (ex. Carlos N.U. Silva ou Carlos N. Ubiratan Silva). No caso de vários autores, seus nomes deverão ser separados por vírgulas.
3.4 Filiação dos autores: Após o nome de cada autor deverá constar um número Arábico, sobrescrito, que indica sua instituição de procedência e, deverá aparecer logo abaixo da nominata dos autores, também centralizado e com endereços completos, inclusive o CEP da cidade. Deve-se assinalar o nome do autor principal com um asterisco sobrescrito, para o qual toda correspondência

deverá ser enviada. O endereço eletrônico, telefone e fax do autor principal aparecerão na primeira página do trabalho como uma nota de rodapé.

3.5 Resumo em português: Deverá apresentar concisamente o trabalho destacando as informações de maior importância, expondo metodologia, resultados e conclusões. Permitirá avaliar o interesse pelo artigo, prescindindo de sua leitura na íntegra. Dever-se-á dar destaque ao Resumo como tópico do trabalho (máximo de 200 palavras).

3.6 Unitermos: Deverão identificar/representar o conteúdo do artigo. Observar o limite máximo de 6 (seis). São importantes para levantamentos em banco de dados, com o objetivo de localizar e valorizar o artigo em questão. Deverão vir separados por vírgula.

3.7 Abstract: Os trabalhos redigidos nas línguas Portuguesa e Espanhola devem vir acompanhados também da versão do resumo para a língua Inglesa. Evitar traduções literais. Quando não houver domínio deste idioma, consultar pessoas qualificadas. O Abstract deve ser encabeçado por versão do título na língua inglesa.

3.8 Keywords: Unitermos em inglês. Também em número máximo de 6 (seis) e separados por vírgula.

3.9 Introdução: Deverá estabelecer com clareza o objetivo do trabalho e sua relação com outros trabalhos na mesma área. Extensas revisões da literatura deverão ser substituídas por referências a publicações mais recentes, onde estas revisões tenham sido apresentadas e estejam disponíveis.

3.10 Material e Métodos: A descrição dos materiais e dos métodos usados deverá ser breve, porém suficientemente clara para possibilitar a perfeita compreensão e a reprodução do trabalho. Processos e técnicas já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, deverão ser referenciados por citação.

3.11 Resultados: Deverão ser apresentados com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e, sempre que possível, ser acompanhados de tabelas e figuras adequadas. Os dados, quando pertinentes deverão ser submetidos a uma análise estatística.

3.12 Discussão: Deverá ser restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, evitando-se inferências não baseadas nos mesmos. Opcionalmente, Resultados e Discussão poderão ser apresentados num único item.

3.13 Agradecimentos: Este item é opcional e deverá vir antes das Referências Bibliográficas.

4. REFERÊNCIAS

A formatação das referências deve ser padronizada em conformidade com as exigências da revista, como é mostrado abaixo:

4.1 Referência dentro do texto:

- No início da citação: autor em caixa baixa, seguido do ano entre parênteses. Ex. Pereira (1999).
- No final da citação: autor em caixa baixa e ano – ambos entre parênteses. Ex. (Silva, 1999) ou (Silva; Souza, 1998) ou (Silva; Souza; Dias, 2000) ou (Silva et al., 1999) ou (Silva et al., 1995a,b).
- Citação textual: colocar, também, a página . Ex. (Silva, 1999, p.24)

4.2 As Referências Bibliográficas serão ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, em caixa baixa e em ordem crescente de data de publicação. Deve-se levar em consideração as seguintes ocorrências:

4.2.1 Revista: Será utilizado a abreviatura do periódico, em itálico, definida no Chemical Abstracts Service Source Index (ver http://www.cas.org/sent.html). Caso a abreviatura autorizada de um determinado periódico não puder ser localizado e não for óbvio como o título deve ser abreviado, deve-se citar o título completo.

- Vargas TOH 1996. Fatores climáticos responsáveis pela morte de borboletas na região sul do Brasil. *Rev Bras Assoc Entomol 11*: 100-105.

No caso especial da revista citada não ser de fácil acesso, é recomendado citar o seu número de Chemical Abstracts, como segue:

- Qu W, Li J, Wang M 1991. Chemical studies on *Helicteres isora* L. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao 22*: 203-206, apud *Chemical Abstracts 116: 124855r*.

Numa citação de citação, colocar o nome das fontes em itálico.

- Wax ET 1977. Antimicrobial activity of Brazilian medicinal plants. *J Braz Biol Res 41*: 77-82, apud *Nat Prod Abs 23*: 588-593, 1978.

4.2.2 Livro:

- Costa AF 1996. *Farmacognosia*. Lisboa: Calouste Gulbenkian.

4.2.3 Capítulo de livro:

- Farias CRM, Ourinho EP 1999. Restauração dentária. In: Goldaman, G.T. (org.) *A nova odontologia*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.95-112.

4.2.4 Tese e Dissertação:

- Lima N 1991. *Influência da ação dos raios solares na germinação do nabo selvagem*. Campinas, 755p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Campinas.
- Romero MAV 1997. *Estudo químico de* Brunfelsia hopeana *Benth e do mecanismo de ação da escopoletina*. João Pessoa, 119p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Produtos naturais, Universidade Federal da Paraíba.

4.2.5 Congressos:

- Thomas G, Selak M, Henson PM 1996. Estudo da fração aquosa do extrato etanólico das folhas de *Cissampelos sympodialis* em neutrófilos humanos. *XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*. Florianópolis, Brasil.

4.2.6 Patentes: Devem ser identificadas conforme modelo abaixo e na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado.

- Ichikawa M, Ogura M, Lijima T 1986. Antiallergic flavone glycoside from *Kalanchoe pinnatum*. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 61,118,396*, apud *Chemical Abstracts*

105: 178423q.

4.2.7 Páginas Internet:

- http://www.mobot.org, acessada em maio de 2003.

5. ENCAMINHAMENTO DOS ARTIGOS

Os trabalhos deverão ser enviados, inicialmente, em três cópias impressas, utilizando-se o programa Word for Windows. Quando da aceitação do trabalho, após as devidas correções, deverão ser enviados um disquete ou CD contendo o arquivo do trabalho e uma cópia impressa. Toda correspondência deverá ser enviada ao Editor-Chefe da Revista, conforme endereço abaixo:

Revista Brasileira de Farmacognosia
Prof. José Maria Barbosa Filho - Editor Chefe
Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
Universidade Federal da Paraíba
Caixa Postal 5072
58051-970, João Pessoa - PB – Brasil

Na carta de encaminhamento é solicitado a indicação de cinco prováveis referees, de outras instituições, com seus endereços postais e eletrônicos. A qualificação do trabalho será atestada por, no mínimo, dois consultores, indicados pela Editoria.

6. CUSTOS

A Revista custeará integralmente os trabalhos de até 15 páginas, incluindo tabelas e figuras. Acima deste número de páginas, as despesas correrão por conta do(s) autor(es). Não serão aceitas fotografias coloridas, a não ser que o(s) autor(es) custeiem sua publicação, independente do número de páginas do trabalho.