



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

MAYARA RIBEIRO

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS
VERMELHA E VERDE FRENTE AO MICRORGANISMO
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

Assis
2011

MAYARA RIBEIRO

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO DE PRÓPOLIS
VERMELHA E VERDE FRENTE AO MICRORGANISMO
STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto municipal de
Ensino Superior de Assis – IMESA,
como requisito do Curso de Graduação.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mary Leiva de Faria

Área de Concentração: Química

Assis
2011

FICHA CATALOGRÁFICA

RIBEIRO, Mayara Priscila

Atividade Antimicrobiana do Extrato de Própolis Vermelha e Verde Frente ao Microrganismo *Staphylococcus aureus* / Mayara Priscila Ribeiro. Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA – Assis, 2011.

56 p.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Mary Leiva de Faria

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

1. Atividade antimicrobiana. 2. Própolis vermelha. 3. Própolis verde

CDD: 660

Biblioteca da FEMA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS
VERMELHA E VERDE FRENTE AO MICRORGANISMO
STAPHYLOCOCCUS AUREUS

MAYARA RIBEIRO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto municipal de
Ensino Superior de Assis – IMESA,
como requisito do Curso de Graduação,
como requisito do Curso de Graduação,
analisado pela seguinte comissão
examinadora:

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mary Leiva de Faria

Analisador (1): Ms.^a Gilcelene Bruzon

Assis
2011

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meus pais por todo amor e carinho que sempre me deram e por não deixarem que eu desanimasse.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser meu porto seguro e sempre me fazer acreditar que era capaz.

À toda minha família pelo apoio e amor incondicional, valeu Cipriana.

Aos meus amigos de Curso por infinitas risadas, mesmo nos dias de profunda tristeza e desânimo. Principalmente a Hellen por sua amizade incondicional.

Aos meus professores por todo conhecimento que me passaram. Elaine, Cleiton, Idécio, Silvia, Martins e principalmente à minha orientadora Mary Leiva por toda sua paciência.

E a todos que me ajudaram de meu muito obrigada.

“Sem ambição, nada se começa. Sem esforço, nada se completa.”

(Ralph Waldo Emerson)

RESUMO

A própolis é uma substância natural, resinosa ou cerosa, colhida pelas abelhas melíferas de diversas partes das plantas. A composição química da própolis é dependente da biodiversidade de cada região visitada pelas abelhas. Entre os compostos fenólicos da própolis, os flavonóides, têm sido considerados como um dos principais constituintes biologicamente ativos, juntamente com os derivados do ácido cinâmico e seus ésteres e os diterpenos. Em virtude da composição química complexa e variável, a própolis é conhecida por suas várias atividades biológicas, tais como antimicrobiana, antioxidante e cicatrizante. Em decorrência da grande diversidade da flora brasileira, as própolis do Brasil foram classificadas em 12 grupos distintos. A própolis verde, classificada como o 12º tipo, é a mais conhecida e estudada, sendo produzida a partir da planta *Baccharis dracunculifolia*, popularmente conhecida como alecrim do campo. O mais recente tipo de própolis descoberto foi a própolis vermelha, a qual é classificada como o 13º, sendo proveniente da região de mangue do estado de Alagoas e com origem botânica identificada como *Dalbegia ecastophyllum*, uma espécie de leguminosa, conhecida popularmente como rabo-de-bugio. Estudos realizados com extratos etanólicos de própolis indicaram atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas. O uso prolongado e indiscriminado de antimicrobianos sintéticos levou a seleção de microrganismos patogênicos mutantes que adquiriram resistência a esses compostos, tornando o uso de antimicrobianos naturais uma saída eficaz e econômica. O objetivo deste trabalho foi comparar o efeito antimicrobiano do extrato de própolis vermelha e verde frente ao *Staphylococcus aureus*. Para a avaliação microbiológica foi utilizada a técnica de difusão em ágar para a visualização de um halo de inibição ao redor do disco de papel. Os resultados foram satisfatórios, demonstrando que após o teste houve a formação de um halo de inibição de médias 4 mm para o extrato de própolis vermelha e de 5,5 mm para o extrato de própolis verde. A partir do experimento realizado foi possível concluir que os extratos de própolis vermelha e verde mostraram-se ativos frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*, sendo a própolis verde mais ativa que a vermelha.

Palavras-chaves: Própolis vermelha; Própolis verde; atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Propolis is a natural substance, resinous or waxy, gathered by melliferous bees from various plant parts. The chemical composition of propolis depends on the biodiversity of each region visited by the bees. Between the phenolic compounds of propolis, the flavonoids, have been considered as one of the principal component biologically active, along with the derivatives of cinnamic acid and its esters and diterpenes. By virtue to the chemical composition complex and variable, propolis is known for its numerous biological activities such as antimicrobial, antioxidant and healing. As a result to the large diversity of Brazilian flora, the propolis from Brazil were classified into 12 distinct groups. The green propolis, rated the 12th type, is the best known and studied, being produced from the plant *Baccharis dracunculifolia*, popularly known as rosemary field. The latest type of propolis discovered was the red propolis, which is rated as the 13th, having come from the mangrove region of the state of Alagoas and with botanical origin identified as *Dalbergia ecastophyllum*, a kind leguminous, popularly known as *rabo-de-bugio*. Studies realized with ethanolic extracts of propolis showed antimicrobial activity against Gram-positive bacterium. The prolonged and indiscriminated use of synthetic antimicrobials induces the selection of mutant pathogens microorganisms that have acquired resistance to these compounds, making the use of natural antimicrobials effective and economical. The goal of this study was to compare the antimicrobial effect of red and green propolis extract against *Staphylococcus aureus*. To the microbiological evaluation was used the agar diffusion technique to the visualization of an inhibition zone around the paper disc. The results were satisfactory, showing that after the test had the formation of an inhibition zone of 4 mm for the red propolis extract and 5.5 mm for the green propolis extract. From the experiment realized it was possible concluded that red and green propolis extracts were active against the organism *Staphylococcus aureus*, being the green propolis more active than the red.

Key-words: red propolis; green propolis; antimicrobial activ

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Alecrim do Campo (<i>Baccharis dracunculifolia</i>).....	20
Figura 2 - Estrutura da Artepilina.....	21
Figura 3 - Alguns constituintes químicos do EEP dos estados de São Paulo e Minas Gerais identificados por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR).....	22
Figura 4 - Alguns dos principais ácidos fenólicos presentes nas regiões de Capetinga, Chave da Taquara, Restinga e Franca.....	23
Figura 5 - Constituintes químicos isolados de Própolis Verde de Passa Quatro, Minas Gerais-Brasil.....	24
Figura 6 - Rabo-de-bugio (<i>Dalbergia ecastophyllum</i>).....	25
Figura 7 - Triterpenóides tipo cicloartano identificados pela primeira vez em própolis.....	26
Figura 8 - Constituintes químicos da própolis vermelha do nordeste do Brasil.....	27
Figura 9 - Estrutura do éster feniletílico do ácido caféico, da pinocembrina e da galangina.....	29
Figura 10 - Estrutura da Crisina.....	32
Figura 11 - Estrutura da Quercetina.....	34
Figura 12 - Formação de dipolos temporários, ao ocorrer à aproximação de dois átomos, que apresentavam inicialmente uma distribuição uniforme de elétrons.....	36
Figura 13 - Interação dipolo permanente entre uma molécula de Bromo e Cloro.....	37
Figura 14 - Molécula Tridimensional da água líquida.....	38

Figura 15 - Momento em que uma ligação covalente é rompida por uma ligação de Hidrogênio.....	38
Figura 16 - Crescimento Bacteriano sem a presença do disco de papel e dos Extratos de Própolis.....	47
Figura 17 - Crescimento bacteriano com a presença dos discos de papel, porém sem a presença dos extratos de própolis.....	48
Figura 18 - Crescimento bacteriano com a presença dos discos de papel imersos no extrato de própolis vermelha.....	49
Figura 19 - Crescimento bacteriano com a presença dos discos de papel imersos no extrato de própolis verde.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ponto de ebulição de diferentes compostos orgânicos.....	39
Tabela 2 - Fórmula aproximada por litro (BP), meio seletivo para <i>Staphylococcus aureus</i>	42
Tabela 3 - Fórmula aproximada por litro (BHI), meio de enriquecimento.....	43
Tabela 4 - Resultados da incubação da bactéria de <i>Staphylococcus aureus</i> após 48h.....	46

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	15
2.	HISTÓRICO.....	18
3.	PRÓPOLIS VERDE.....	20
4.	PRÓPOLIS VERMELHA.....	25
5.	ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	28
5.1	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	28
5.2	ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA.....	29
5.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	30
5.4	ATIVIDADE ANTINEOPLÁSICA.....	31
5.5	ATIVIDADE ANTIVIRAL.....	32
5.5.1	Atividade antiadenovirus.....	32
5.5.2	Atividade anti-HIV.....	32
5.6	CICATRIZANTE.....	33
5.7	IMUNODULATÓRIA.....	33

6.	PREPARAÇÃO DE EXTRATOS ETANÓLICOS E OLEOSOS DE PRÓPOLIS: UM TEMA PARA O ENSINO DE INTERAÇÕES INTERMOLECULARES.....	35
6.1	TIPOS DE INTERAÇÕES INTERMOLECULARES.....	36
6.1.1	Interação dipolo induzido ou Forças de Dispersão de London.....	36
6.1.2	Interações dipolo permanente.....	37
6.1.3	Ligações de Hidrogênio.....	37
6.2	INTERAÇÕES INTERMOLECULARES E PONTO DE EBULIÇÃO.....	38
6.3	INTERAÇÕES INTERMOLECULARES, POLARIDADE E SOLUBILIDADE.....	39
7.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
7.1	MATERIAIS.....	41
7.2	EXTRATOS DE PRÓPOLIS.....	41
7.3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	42
7.3.1	Ensaio Biológico.....	42
7.3.1.1	Meio de Cultura.....	42
7.3.1.2	Preparo dos meios de cultura.....	43

7.4	TESTE DE DIFUSÃO EM ÁGAR.....	44
8.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
9.	CONCLUSÃO.....	50
	REFERÊNCIAS.....	51

1. INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância natural, resinosa ou cerosa, colhida pelas abelhas melíferas de diversas partes das plantas, tais como, botões florais, brotos, casca, ramos, flores, folhas e exsudatos de árvores (NUNES et al., 2009; CABRAL et al., 2009; CASTRO et al., 2007). Esta substância é transportada pelas abelhas até a colméia, onde é modificada por meio de adição de cera, pólen e produtos do seu metabolismo, como a enzima salivar β -glicosidase, resultando em um aumento de sua ação farmacológica (FISCHER et al., 2008).

Segundo Lustosa et al. (2008), “a palavra própolis é derivada do grego *pro-*, em defesa, e *polis-*, cidade ou comunidade, isto é, em defesa da comunidade”. É produzida pelas abelhas para várias funções na colméia, como para vedar frestas, na proteção contra insetos e microorganismos, na preparação de locais assépticos para a postura da abelha rainha, na mumificação de insetos invasores, evitando o processo de putrefação, além de reparar os favos estragados e consolidar os favos móveis (NUNES et al., 2009; JUNIOR et al., 2006).

De modo geral, contém 50-60% de resinas e bálsamos, 30-40% de ceras, 10% de pólen e metabólitos secundários, incluindo flavonóides, ácidos fenólicos, além de minerais (LUSTOSA et al., 2008; SILVA et al., 2006).

A composição química da própolis é dependente da biodiversidade de cada região visitada pelas abelhas, estando as substâncias presentes, diretamente relacionadas com a composição química da resina da planta de origem (CABRAL, et al., 2009; CASTRO et al., 2007).

Mais de 200 compostos já foram identificados em amostras de própolis de origens diferentes, dentre esses, ácidos fenólicos e seus ésteres, flavonóides (flavonas, fovanonas, flavonóis, chalconas), terpenos, β -esteróides, aldeídos e álcoois aromáticos, sesquiterpenos e naftaleno (SILVA et al., 2006; VARGAS et al., 2004).

Entre os compostos fenólicos da própolis, os flavonóides, têm sido considerados como um dos principais constituintes biologicamente ativos, juntamente com os

derivados do ácido cinâmico e seus ésteres e os diterpenos (CASTRO et al., 2007; CABRAL et al., 2009).

Em virtude da composição química complexa e variável, a própolis é conhecida por suas várias atividades biológicas, tais como antimicrobiana, antioxidante, anticariogênica, antiinflamatória, imunomoduladora, citotóxica, cicatrizante, anestésica e anti-HIV (LUSTOSA et al., 2008; JUNIOR et al., 2006; CABRAL et al., 2009).

Em decorrência da grande diversidade da flora brasileira, as própolis do Brasil foram classificadas em 12 grupos distintos, de acordo com a região geográfica de origem, composição química e vegetação de onde foi extraída (CABRAL et al., 2009; NUNES et al., 2009).

A própolis verde, classificada como o 12º tipo, é a mais conhecida e estudada, sendo produzida a partir da planta *Baccharis dracunculifolia*, popularmente conhecida como alecrim do campo (FISCHER et al., 2008). Porém, a descoberta de um novo tipo de própolis, classificada como o 13º tipo, denominada própolis vermelha, vem despertando um grande interesse devido às várias atividades biológicas apresentadas em ensaios *in vitro*, inclusive antibacteriana (CABRAL et al., 2009). Esta própolis é proveniente da região de mangue do estado de Alagoas, sendo sua origem botânica identificada como *Dalbergia ecastophyllum*, uma espécie de leguminosa.

Estudos realizados com extratos etanólicos de própolis indicaram que os mesmos apresentaram atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, porém observou-se que as Gram-negativas mostraram-se menos suscetíveis (MELANI, 2009).

O uso prolongado e indiscriminado de antimicrobianos sintéticos levou a seleção de microrganismos patogênicos mutantes que adquiriram resistência a esses compostos, tornando o uso de antimicrobianos naturais uma saída eficaz e econômica (VARGAS et al., 2004). Neste contexto, o objetivo deste trabalho é comparar o efeito antimicrobiano do extrato de própolis vermelha e verde frente ao *Staphylococcus aureus*.

2. HISTÓRICO

A utilização da própolis pelo homem remonta à antiguidade (300 a.C.), sendo costume na Idade Média esfregar o umbigo dos bebês com esta substância. Os egípcios a utilizavam como um dos constituintes do preparo utilizado para embalsamar cadáveres, pois sabiam de sua atividade anti-putrefativa. As múmias dos faraós ainda estão em perfeito estado de conservação, graças à utilização da própolis no embalsamento dos cadáveres. A própolis, que também era chamada de “cola de abelha”, era notoriamente reconhecida por médicos gregos e romanos como Aristóteles, Dioscórides, Plínio e Galeno por suas propriedades medicinais (LUSTOSA et al., 2008; RIGHI, 2008; OLDINI, 2007).

A própolis teve sua contribuição até mesmo na música. Historiadores dizem que os violinos de Stradivarius devem sua maravilhosa sonoridade devido à proteção deste instrumento com um verniz a base de própolis (OLDINI, 2007). A própolis foi muito utilizada como cicatrizante na guerra do final do século XIX na África do Sul em decorrência de suas propriedades cicatrizantes, e na segunda guerra mundial foi empregada em várias clínicas soviéticas como base de uma pomada para tratar ferimentos, mostrando excelentes resultados (LUSTOSA et al., 2008; SILVA et al., 2005). Na antiga URSS foi utilizada na medicina veterinária e humana, obtendo bons resultados no tratamento da tuberculose, observando-se regressão dos problemas pulmonares e recuperação do apetite. O primeiro trabalho científico sobre suas propriedades químicas e sua composição foi publicado em 1908 no *Chemical Abstracts*, porém o termo própolis já era descrito desde o século XVI na França. (OLDONI, 2007; LUSTOSA et al., 2008).

Na década de 50 e 60, a própolis começou a ser apreciada no tratamento de problemas de saúde, como otites, amidalites e asma brônquica na ex-União Soviética e em países do leste Europeu, como Bulgária, República Tcheca e Polônia. Esta substância só adquiriu popularidade nos países do oeste Europeu, na América do Norte e do Sul, por volta dos anos 80. Tornou-se um importante produto na medicina alternativa na metade dos anos 80, sendo o Japão o principal

importador de própolis, com preferência pela própolis brasileira (MELANI, 2009; LUSTOSA et al., 2008).

Até o ano 2000 haviam sido publicados e citados 450 trabalhos no Chemical Abstracts, vindos de 39 países dos cinco continentes, além de 239 patentes. Porém, uma pesquisa feita pelo *European Patent Office*, tomando como base de dados o Worldwide, mostrou que de 2003 até 2008 foram mais de 500 pedidos de patentes relacionados à própolis, mostrando um crescimento exponencial no aprofundamento dos estudos relativos a esta substância (LUSTOSA et al., 2008).

No Brasil foi a partir da década de 80, com o trabalho de Ernesto Ulrich Breyer, “Abelha e saúde”, que demonstrava as propriedades terapêuticas da própolis e sua utilização como antibiótico natural, que o interesse por esse produto natural aconteceu (LUSTOSA et al., 2008).

Hoje, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de própolis, ficando atrás apenas da China. A produção de própolis no Brasil gira em torno de 100 toneladas/ano, sendo a maior parte direcionada a exportação onde alcança um valor elevado (LINS et al., 2010).

3. PRÓPOLIS VERDE

A própolis mais conhecida e estudada é a própolis verde, produzida dos ápices vegetativos de uma planta conhecida popularmente como alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) (figura 1), que pode ser encontrada em diversas regiões do Brasil, sendo produzida fundamentalmente no sul, leste, centro e zona da mata de Minas Gerais, leste de São Paulo, norte do Paraná e em regiões serranas do Rio de Janeiro e Espírito Santo (FISCHER et al, 2008; NASCIMENTO et al., 2008). A própolis verde é um produto tipicamente brasileiro, conhecida mundialmente como *greenprópolis*, possuindo uma coloração característica que é empregada pelos japoneses para sua rápida identificação no processo de comercialização (NASCIMENTO et al., 2008; SOUSA et al., 2007).



Figura 1 – Alecrim do Campo (*Baccharis dracunculifolia*) (In: SILVA, 2011)

Por ser altamente eficaz no combate de vários microrganismos, a própolis verde é muito valorizada no mercado internacional, sendo que somente o Japão, maior consumidor deste produto, movimenta um mercado de 700 milhões de dólares por

ano (NASCIMENTO et al., 2008). A própolis é utilizada no Japão como suplemento alimentar na profilaxia de doenças, devido ao baixo teor de poluentes ambientais e suas ótimas características organolépticas (SOUSA et al., 2007).

Embora o chá de alecrim-do-campo esteja presente na medicina popular brasileira há muito tempo e os extratos de própolis verdes sejam muito consumidos pelos japoneses, as pesquisas sobre sua composição química é relativamente recente, tendo avançado tanto no Brasil como no exterior. Visto que os extratos aquoso e etanólico são os mais utilizados nos vários tipos de aplicações terapêuticas, a análise química da própolis tem se concentrado nestes tipos de extratos. Como a própolis é uma mistura de produtos que varia conforme a flora de cada região e da época do ano, sua análise química é muito difícil. (NASCIMENTO et al., 2008).

A própolis verde brasileira, produzida em São Paulo e Minas Gerais tem como constituinte majoritário o ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (artepilina) (figura 2), possuindo também outros derivados prenilados do ácido *p*-cumárico e de grande quantidade de flavonóides, muitos dos quais não são encontrados na própolis da Europa, América do Norte e Ásia (TAVARES et al., 2010; LUSTOSA et al., 2008).

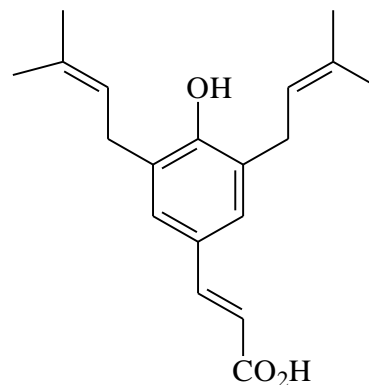
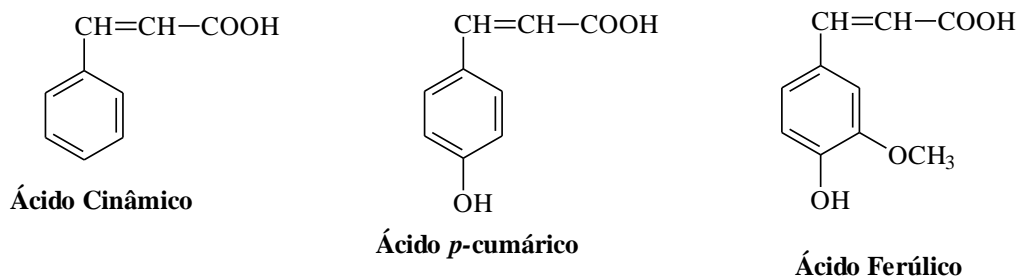


Figura 2 – Estrutura da Artepilina (In: TAVARES et al., 2010, p. 2052)

Alencar et al. (2005) fizeram a análise fitoquímica de própolis produzidas de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim-do-campo) por abelhas *Apis mellifera* africanizada nos estados de São Paulo e Minas Gerais através de espectrofotometria na região UV-visível, cromatografia em camada delgada de alta eficiência em fase reversa

(CCDAE-FR), cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) e cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas (CG-EM). Os resultados obtidos pela cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa do extrato etanólico de própolis (EEP) confirmaram a presença de 18 substâncias, algumas das quais estão apresentadas na figura 2.

Derivados do Ácido Cinâmico



Flavonóides

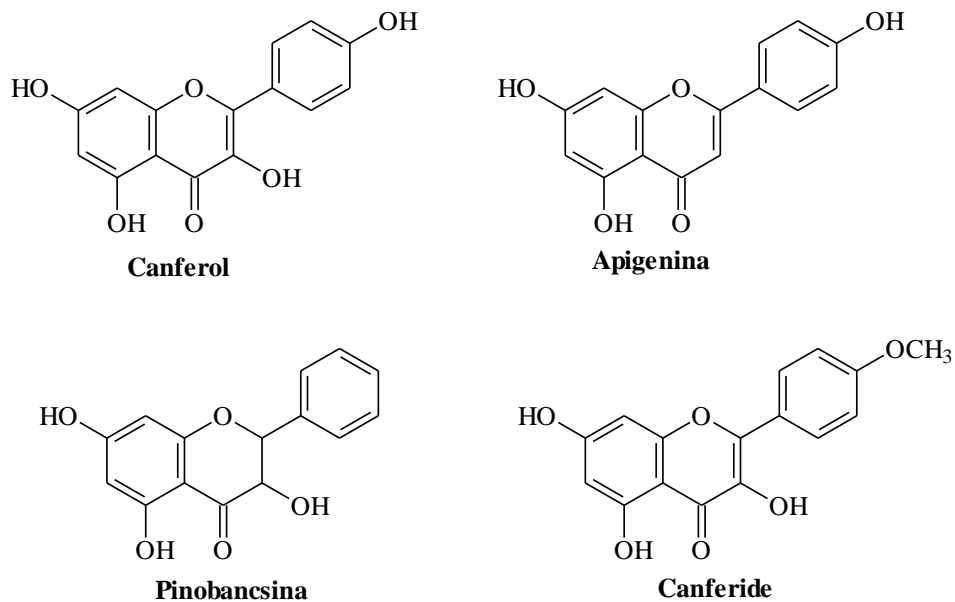


Figura 3 – Alguns constituintes químicos do EEP dos estados de São Paulo e Minas Gerais identificados por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) (In: SOARES, 2002, p. 73; MARCUCCI; WOISKY; SALATINO, 2011; SILVA et al., 2003, p. 517 e 518)

Sousa et al. (2007) realizaram análises para o controle de qualidade físico-químico de amostras de própolis, provenientes de seis diferentes locais situados nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), bem como para verificar a qualidade deste produto para o consumo humano e selecionar regiões produtoras de própolis verde. Segundo os autores, as localidades de Capetinga-MG e o distrito de Chave da Taquara-SP produziram própolis verde durante todo o período da coleta. Na avaliação dos principais compostos fenólicos, a artepilina (figura 2), a drupanina e a bacarina (figura 3) apresentaram teores médios significativos de 4,9 a 7%. A presença destes compostos juntamente com fragmentos de *B. dracunculifolia*, geralmente, caracteriza a própolis denominada verde. Adicionalmente, as amostras de própolis provenientes destes locais, por apresentarem teores de flavonóides totais que variam entre 1 e 2% p/p e teores de ácidos fenólicos que oscilaram entre 4 e 8%, mostraram-se satisfatórias para o consumo humano.

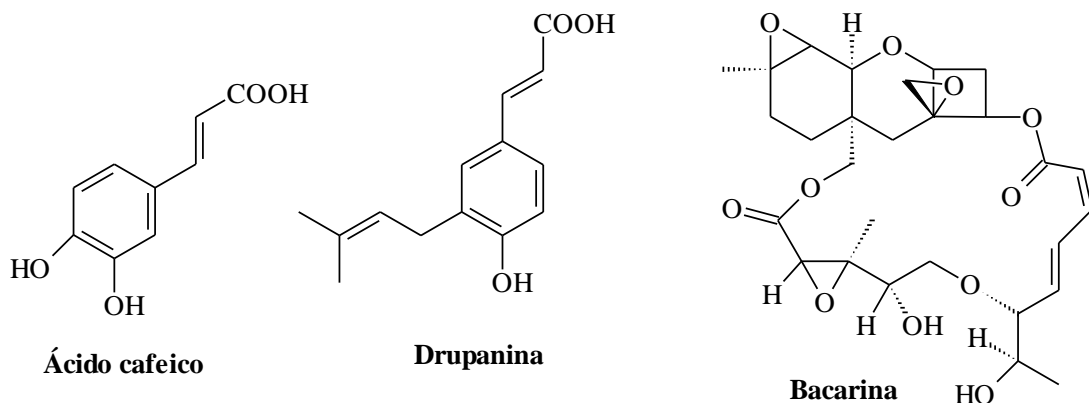


Figura 4 – Alguns dos principais ácidos fenólicos presentes nas regiões de Capetinga, Chave da Taquara, Restinga e Franca (In: SOARES, 2002, p. 73; TAVARES et al., 2010, p. 2052; DEWICK, 2011)

Tavares et al. (2010) fizeram uma investigação fitoquímica de uma amostra de própolis verde, obtida na cidade de Passa Quatro (Minas Gerais). Foram isolados e caracterizados, do extrato etanólico, a mistura de α e β -amirinas, o lupeol, a mistura dos flavonóides ramnocitrina e eupalitina, acacetina e os ácidos 3-prenil-4-hidroxicinâmico, artepilina e a nova substância caracterizada como o ácido (E)-3-[4-(3-fenilpropanoiloxi)]-3-5-diprenil-cinâmico (figura 4).

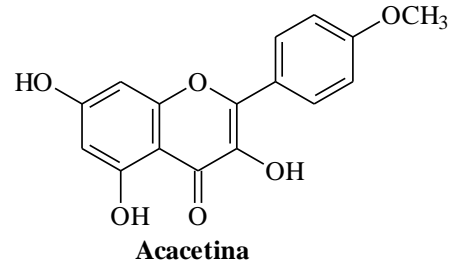
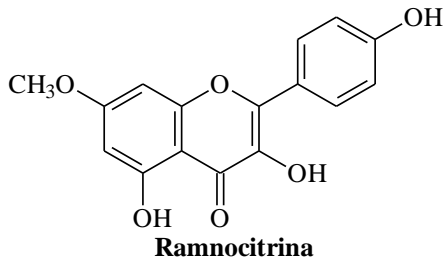
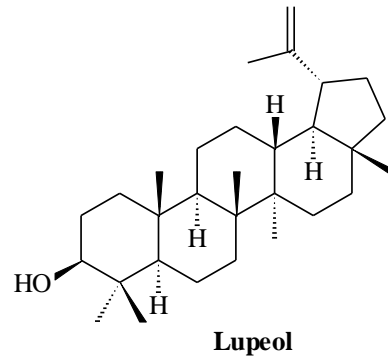
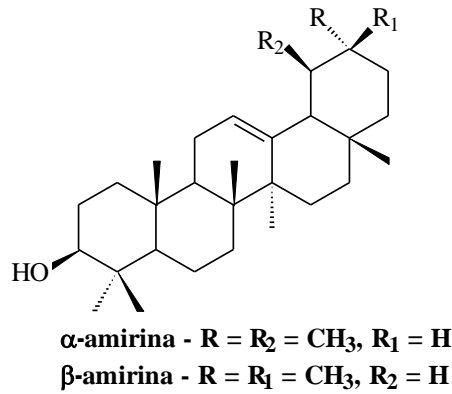
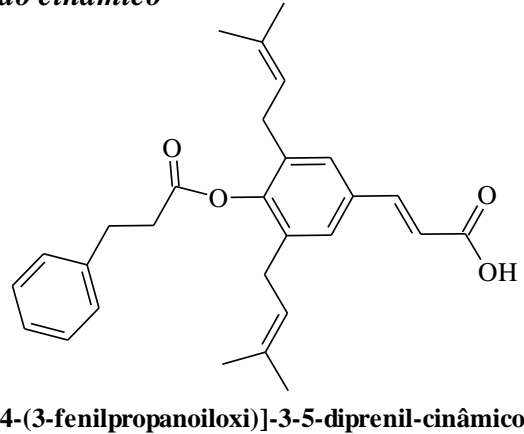
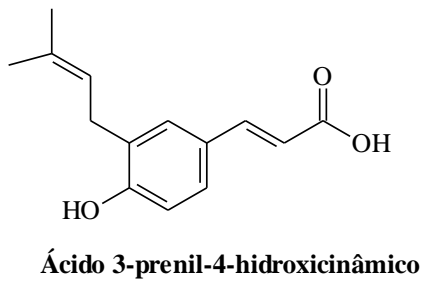
Flavonóides*Triterpenóides**Derivados do Acido cinâmico*

Figura 5 – Constituintes químicos isolados de Própolis Verde de Passa Quatro, Minas Gerais-Brasil (In: TAVARES et al., 2010, p. 2052; ALBUQUERQUE et al., 2007, p. 829; SILVA et al., 2009, p. 1121; BANDEIRA et al., 2007, p. 205).

4. PRÓPOLIS VERMELHA

Atualmente um novo tipo de própolis vinda da região do mangue de Alagoas, classificada como 13º tipo de própolis brasileira, tem demonstrado várias atividades biológicas em ensaios *in vitro*. Esta própolis conhecida como “própolis vermelha” tem sua origem botânica identificada como *Dalbergia ecastophyllum*, popularmente conhecida como rabo-de-bugio (figura 6). É encontrada principalmente nas áreas litorâneas da região norte e nordeste do Brasil. A própolis vermelha é relatada como sendo típica de Cuba e Venezuela, sendo suas origens botânicas nestes países respectivamente *Clusia nemorosa* (Clusiaceae) e *Clusia scrobiculata*. (CABRAL, 2009; NUNES 2009).



Figura 6 – Rabo-de-bugio (*Dalbergia ecastophyllum*)
(In:http://131.230.176.4/cgi-bin/dol/dol_terminal.pl?taxon_name=Dalbergia&rank=genus, 2008)

Os compostos da própolis vermelha brasileira foram isolados e identificados, sendo que alguns nunca haviam sido identificados em outro tipo de própolis antes. Os

compostos já identificados pertencem a diferentes classes, tais como, fenólicos, triterpenóides, isoflavonóides, benzofenonas preniladas e um epóxido da naftoquinona, este último sendo isolado pela primeira vez em um produto natural (OLIVEIRA, 2010).

Alguns triterpenóides identificados através da análise dos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135° , apresentam frações em éter etílico, obtidos após fracionamento em coluna de gel de sílica e Sephadex LH-20 inéditas em própolis. Estes triterpenóides com esqueletos C_{30} e C_{31} , baseados no cicloartano, são característicos da espécie *Mangifera indica* (Anacardiaceae). São estes o ácido isomangiferólico (**1**), o ácido mangiferólico (**2**), o ácido mangiferônico (**3**), o 24-metileno-cicloartano- 3β , 26-diol (**4**), o ácido ambólico (**5**) e o ácido ambônico (**6**), os quais estão apresentados na figura 7 (SILVA *et al.*, 2005).

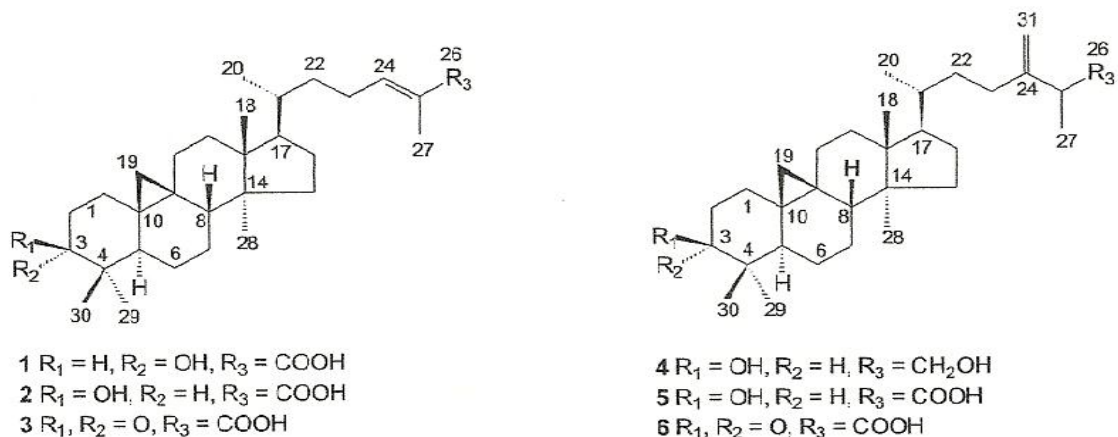
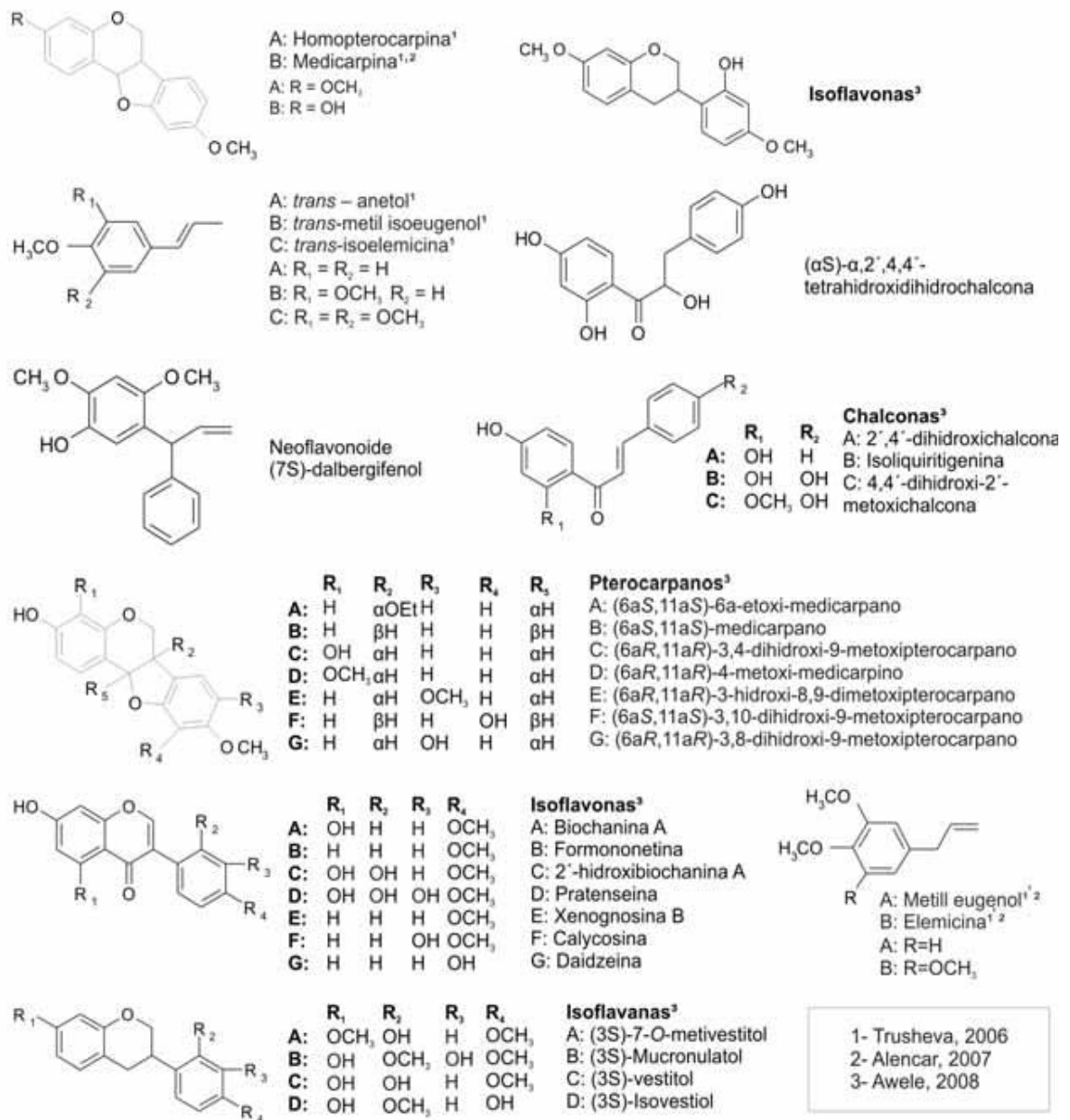


Figura 7 - Triterpenóides tipo cicloartano identificados pela primeira vez em própolis (In: SILVA *et al.*, 2005, p. 801)

Na figura 8 estão as principais substâncias identificadas nos mais recentes trabalhos a respeito desse novo tipo de própolis. Algumas dessas moléculas são encontradas apenas na própolis vermelha do nordeste do Brasil, diferenciando-as das demais. Estas moléculas podem apresentar atividades biológicas ainda não conhecidas em outras amostras de própolis (LUSTOSA *et al.*, 2008).



1- Trusheva, 2006
2- Alencar, 2007
3- Awele, 2008

Figura 8 - Constituintes químicos da própolis vermelha do nordeste do Brasil (In: LUSTOSA *et al.*, 2008, p. 450).

5. ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Tanto a própolis vermelha quanto a própolis verde possuem diversas atividades biológicas, sendo este potencial biológico atribuído a um sinergismo que ocorre entre os muitos constituintes (LUSTOSA et al., 2008).

5.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A descoberta da penicilina foi o primeiro passo para a descoberta de todas as classes de antibióticos existentes atualmente. Porém, o uso indiscriminado de diversas classes de antibióticos, fez com que se desenvolvesse resistência bacteriana a estes compostos, aumentando assim a procura por novos fármacos. Os produtos de origem natural tem ganhado uma atenção especial e dentre eles, a própolis é o produto que mais se destaca (CABRAL, 2008).

Estudos mostram que a atividade antimicrobiana *in vitro* da própolis está relacionada à presença principalmente da flavonona pinocembrina, do flavonol galangina e do éster feniletil do ácido caféico (figura 9). Estes compostos tem um mecanismo de ação que inibem o RNA-polimerase bacteriano. Outros componentes como os flavonóides, o ácido caféico (figura 3), ácido benzóico, ácido cinâmico (figura 2), causam danos estruturais e funcionais, pois agem provavelmente na membrana ou parede celular do microrganismo (LUSTOSA et al., 2008; CABRAL, 2008).

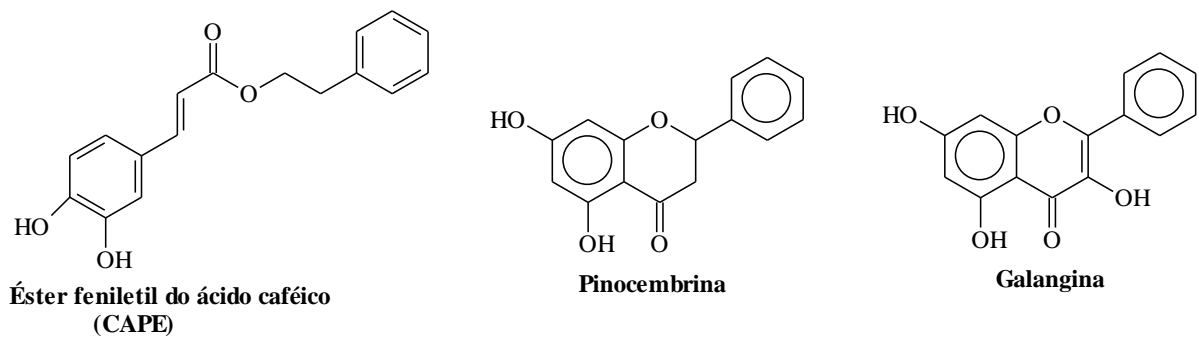


Figura 9 – Estrutura do éster feniletíl do ácido caféico, da pinocebrina e da galangina (In: <http://www.hschems.com.pt/2-phenethyl-caffeate-3g.html>, 2011; PRZYTYK et al., 2011; COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009, p. 248)

A própolis possui ação antibacteriana maior contra bactérias Gram-positivas e leveduras e limitada contra Gram-negativas. A bactéria mais resistente dentre os Gram-positivos é o *E. faecalis*, e dentre os Gram-negativos são os fungos *Salmonella ssp* e *Candida albicans*, respectivamente. Até então não se tem dados que respondam o porque desta menor susceptibilidade dos extratos de própolis contra bactéria Gram-negativas. O que se sabe é que elas possuem uma parede celular quimicamente mais complexa e um teor lipídico maior (LUSTOSA et al., 2008; MELANI, 2009).

Diversos trabalhos relatam a atividade sinérgica da própolis associada a diversos antibióticos, inclusive contra cepas resistentes a benzilpenicilina, tetraciclina e eritromicina. Esses autores relatam que a própolis possui ação sinérgica relevante, sendo uma alternativa terapêutica para a resistência microbiana, dependendo da sua composição (LUSTOSA et al., 2008).

5.2 ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA

Os processos inflamatórios estão ligados a várias doenças e suas causas são variadas. Soluções hidroalcoólicas de própolis tem mostrado uma atividade anti-

inflamatória satisfatória em trabalhos com camundongos e coelhos, tanto em aplicações tópicas, bem como através de injeções ou via oral (MENEZES, 2005).

A atividade antiinflamatória observada na própolis está ligada a presença de flavonóides, principalmente a galangina (figura 9), que apresenta atividade inibitória contra a ciclooxigenase (COX) e lipooxigenase. Há estudos também que mostram que o éster feniletil do ácido caféico (CAPE) (figura 9), possui atividade anti-inflamatória por inibir a liberação de ácido aracdônico da membrana celular, inibindo as atividades das enzimas COX-1 e COX-2 (LUSTOSA et al. 2008).

Sua ação anti-inflamatória deve-se também por inibir a síntese das prostaglandinas, ativar a glândula timo, auxiliando o sistema imune, pois promove a atividade fagocítica e estimula a imunidade celular (LUSTOSA et al., 2008). Outro fator responsável pela atividade anti-inflamatória da própolis é a inibição na geração de óxido nítrico por macrófagos. Porém, outros estudos apontam um aumento na produção de H_2O_2 e NO por estas células e estudos adicionais, mostram um incremento na mobilidade e espraiamento destas células (MENEZES, 2005).

5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O aumento nos níveis de radicais livres em nosso organismo está relacionado à ocorrência de diversas doenças, tais como, doenças cardiovasculares, doenças reumáticas, doenças neurológicas, doenças psiquiátricas, envelhecimento precoce, neoplasias, osteoporose, diabetes e inflamação. Para o controle destas patologias o emprego de plantas contendo conhecidos polifenóis com propriedades antioxidantes, tem sido cada vez mais recorrente (MENEZES, 2005).

Os antioxidantes mais efetivos na própolis são os flavonoides, principalmente o éster feniletil do ácido caféico (CAPE) (figura 9). Estudos de extratos de própolis da Argentina apontam uma correlação entre o alto conteúdo de flavonoides totais e a atividade anti-radicaís livres (LUSTOSA et al., 2008). Porém, estudos mostram que extratos de própolis que tiveram o CAPE removido continuam tendo uma atividade antioxidante boa (MENEZES, 2005).

Um mecanismo antioxidante da própolis poderia ser o sequestro de radicais livres gerados por neutrófilos, que resultariam em uma atividade anti-inflamatória final (MENEZES, 2005).

5.4 ATIVIDADE ANTINEOPLÁSICA

O crescimento de células tumorais é conhecido como neoplasia ou usualmente, meios anormais de proliferação. Se as células proliferativas não forem capazes de fagocitar células teciduais, isso levará a um início de tumor, se isso acontecer o tumor é considerado maligno (DAUGSCH, 2007).

Amostras de própolis de diversas procedências estão tendo seus compostos isolados por pesquisadores a procura de novas drogas para o controle de diversos tipos de neoplasias. Diversos desses compostos isolados apresentaram atividade inibitória no crescimento de diversos tumores (MENEZES, 2005).

Estudos comprovaram a atividade inibitória de um diterpeno (PMS-1) sobre hepatocarcinoma humano, sugerindo que sua atividade está relacionada com a inibição na síntese de DNA das células do tumor de pele. O CAPE (figura 9) isolado da própolis, mostrou atividade antiproliferativa sobre a linhagem de hepatocarcinoma Hep3B, porém quando adicionado a culturas primárias de hepatócito de camundongo mostrou-se inócuo (MENEZES, 2005).

A crisina (figura 10), também isolada da própolis, mostrou-se efetiva em inibir o crescimento de culturas de linhagem de glioma C6 de rato, na fase G1 do ciclo celular as células mantiveram-se estacionárias. Outros estudos isolaram compostos hidrossolúveis da própolis, que atuando sinergisticamente, aumentam a atividade de drogas tumorocidas, inibindo o desenvolvimento de tumores acíticos de Ehrlich (MENEZES, 2005).

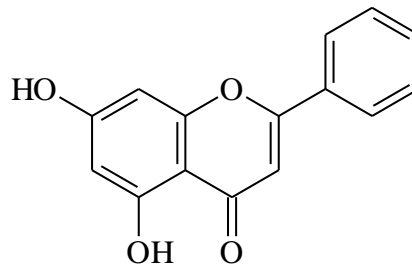


Figura 10 – Estrutura da Crisina (In: BRAZ FILHO, 2010, p. 236)

5.5 ATIVIDADE ANTIVIRAL

O vírus é um agente infeccioso muito pequeno que necessita de uma célula animal, vegetal ou bacteriana viva para se multiplicar. Os flavonoides, encontrado abundantemente na própolis pode ser utilizado para combater a replicação e a ação infecciosa do vírus (DAUGSCH, 2007).

5.5.1 Atividade antiadenovirus

O CAPE (figura 9) mostrou-se eficaz suprimindo o adenovírus do tipo 5E1A mediante a transformação e expressão de transformação fenotípica. A ação supressiva do crescimento e tóxica do CAPE foi testado em 5 tipos diferentes de adenovírus transformados em células embrionárias de rato. Foi também examinada a toxicidade seletiva do CAPE para transformação oncogênica de fibroblastos embrionários de ratos (DAUGSCH, 2007).

5.5.2 Atividade anti-HIV

Alguns triterpenóides como os derivados do ácido morônico e meliferone, isolados da própolis mostraram uma promissora atividade anti-HIV. Um máximo de 98% da expressão viral pode ser suprimida *in vitro* por própolis. O mecanismo parece ser a

inibição de entrada viral. Os efeitos antivirais da própolis podem ser por inibição da transcriptase reversa. Não se tem notícias do efeito da inibição das proteases (DAUGSCH, 2007).

Estudos *in vitro* apontam que a própolis possui uma potente atividade antiviral contra as variantes X4 e R5 do HIV-1. Atividade parecida foi observada com linfócitos CD4⁺ operando, pelo menos em parte, como inibidor da entrada viral (LUSTOSA et al., 2008).

5.6 CICATRIZANTE

Assim como várias outras propriedades biológicas, a propriedade cicatrizante da própolis está relacionada com flavonóides e ácidos fenólicos. Foi demonstrado através de um estudo que comparava a propriedade cicatrizante de um creme de própolis com um de sulfadiazina, que os ferimentos tratados com própolis apresentaram menos inflamação e uma cicatrização mais rápida do que aqueles tratados com sulfadiazina de prata (LUSTOSA et al., 2008).

5.7 IMUNOMODULATÓRIA

Estudos demonstraram que o tratamento com extrato de própolis diminui as inflamações das vias aéreas em ratos, provavelmente por sua capacidade em modular a produção de citocina, tornando-se assim um novo agente no tratamento da asma. Em modelos experimentais os derivados hidrossolúveis de própolis, o ácido caféico (figura 3), o éster feniletil do ácido caféico (figura 9) e a quercetina (figura 11) demonstraram que poderiam ser extremamente úteis no controle do crescimento tumoral (LUSTOSA et al., 2008).

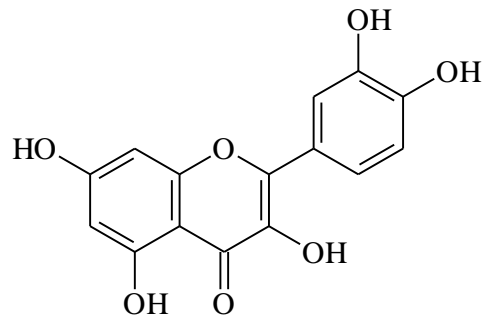


Figura 11 - Estrutura da quercetina (In: COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009, p. 248)

Nos últimos anos vários estudos demonstraram a atividade da própolis no sistema imunológico (ativando macrófagos, estimulando anticorpos, aumentando a atividade lítica contra células tumorais, etc.). Contudo, os mecanismos envolvidos na quimioprevenção ainda não são totalmente conhecidos (LUSTOSA et al., 2008).

6. PREPARAÇÃO DE EXTRATOS ETANÓLICOS E OLEOSOS DE PRÓPOLIS: UM TEMA PARA O ENSINO DE INTERAÇÕES INTERMOLECULARES

A química no ensino médio deve ter como foco, esclarecer a química presente no cotidiano do aluno/cidadão, para que assim eles possam mudar a maneira que percebem o mundo, despertando novos interesses (CURI, 2006). Não basta que os professores apenas transmitam seus conhecimentos aos seus alunos, e sim que ele trabalhe o tema proposto com base na vida em sociedade. Assim o tema ganharia maior flexibilidade e interatividade (OLIVEIRA et al., 2009).

A experimentação, principalmente nas aulas de química, tem um caráter motivador, lúdico, essencialmente vinculado aos sentidos. Com base neste pensamento os professores poderiam levar para salas de aula experimentos de baixo custo e fácil execução, estimulando o questionamento e a curiosidade de seus alunos (GUIMARÃES, 2009; GIORDAN, 1999).

Com base no experimento realizado por este trabalho, ou seja, a atividade antimicrobiana do extrato de própolis vermelha e verde frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*, é possível tomar como base a preparação de extratos etanólicos e oleosos para o ensino de interações intermoleculares.

Trabalhando com os diferentes extratos é possível estabelecer uma relação entre os tipos de compostos extraídos e a polaridade do solvente, destacando-se que compostos mais polares são extraídos por solventes mais polares. Com isto é possível abordar as interações intermoleculares, ou seja, as forças de atração, de natureza eletrostática, que mantém as moléculas unidas nos estados sólido, líquido e gasoso, e que são responsáveis pela solubilização de determinados compostos em alguns tipos de solventes (CURI, 2006; ROCHA, 2001).

A partir da preparação de diferentes tipos de extratos de própolis é possível abordar também a relação entre as interações intermoleculares com o ponto de ebulição e a solubilidade, criando então uma ligação entre o cotidiano do aluno e o ensino de química.

Feita esta ponte pode-se então ministrar a aula, conforme conteúdo descrito a seguir.

6.1 TIPOS DE INTERAÇÕES INTERMOLECULARES

6.1.1 Interação dipolo induzido ou Forças de Dispersão de London

São interações fracas que ocorrem entre moléculas apolares ou entre átomos de gases nobres (REIS, 1993, p. 105).

Uma molécula, mesmo sendo apolar, é formada por muitos elétrons que se movimentam rapidamente. Em certo momento, pode acontecer de uma molécula estar com mais elétrons de um lado do que de outro, ficando momentaneamente polarizada e, por indução elétrica, provocará a polarização de uma molécula vizinha, resultando em uma fraca atração entre ambas. Essa atração é conhecida como Força de Dispersão de London ou dipolo induzido (FELTRE, 1996, p. 87).

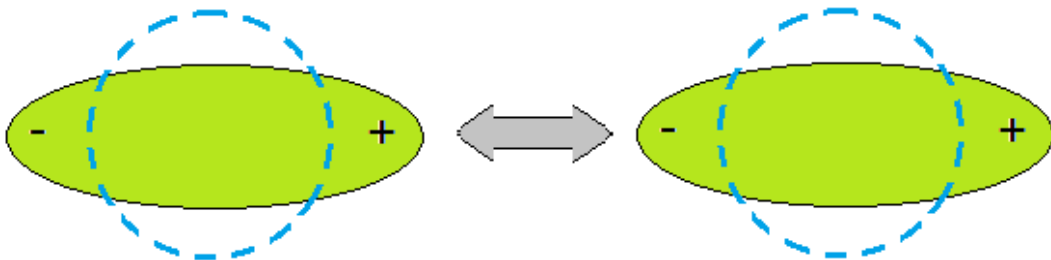


Figura 12 – Momento em que uma molécula momentaneamente polarizada provoca a polarização de uma molécula vizinha por indução elétrica (FELTRE, 1996, p. 87).

6.1.2 Interações dipolo permanente

São interações existentes entre moléculas polares. Formam-se de forma que a extremidade negativa do dipolo de uma molécula se aproxime da extremidade positiva do dipolo de outra molécula (figura 13). A força envolvida em uma interação dipolo permanente é de natureza elétrica, sendo mais forte que as interações dipolo induzido (REIS, 1993).

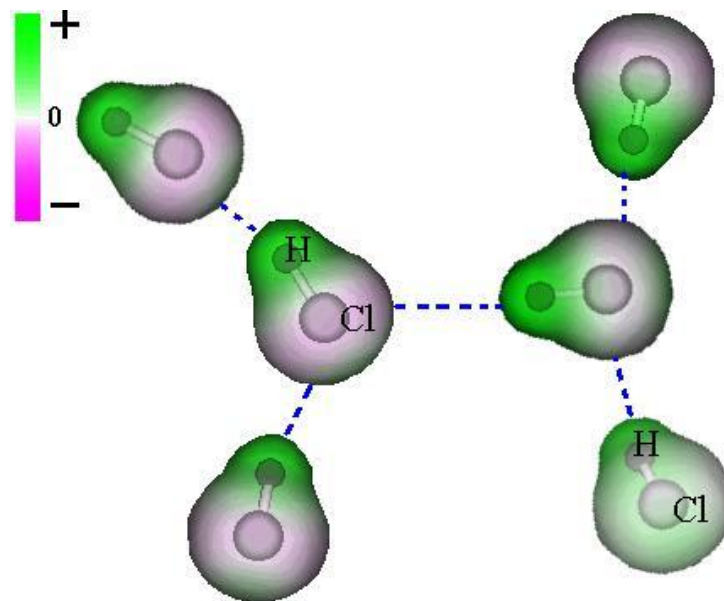


Figura 13 – Interação dipolo-dipolo permanente entre moléculas de ácido clorídrico (In: FELTRE, 1996, p. 86)

6.1.3 Ligações de Hidrogênio

São interações do tipo dipolo permanente, porém bem mais fortes. Ocorre quando tem-se o hidrogênio ligado a um elemento fortemente eletronegativo, flúor, oxigênio e nitrogênio (FON) (figura 14). Existe principalmente em substâncias nos estados sólidos e líquidos. O gelo é menos denso que a água, devido à organização e maior espaçamento entre as moléculas no estado sólido (FELTRE, 2004).

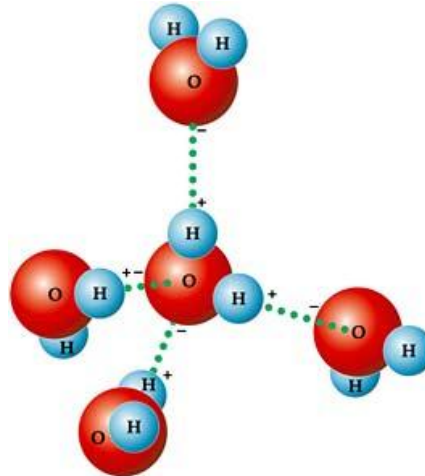


Figura 14 – Molécula tridimensional da água líquida (In: FELTRE, 2004, p. 177)

As ligações de hidrogênio são cerca de dez vezes menos intensas que as ligações covalentes, em alguns casos especiais, ela pode romper uma ligação covalente (figura 15) (FELTRE, 2004).

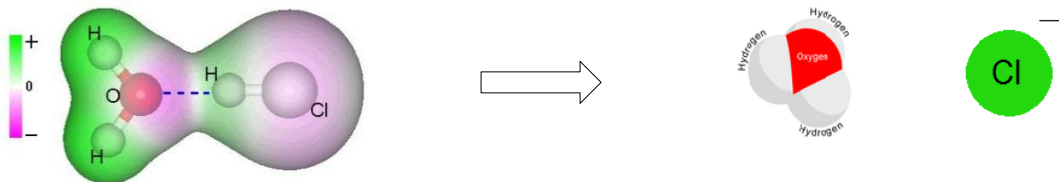


Figura 15 – Momento em que uma ligação covalente é rompida por uma ligação de Hidrogênio (In: FELTRE, 2004, p.177)

No caso mostrado na figura 15, o oxigênio da água atrai mais o hidrogênio do cloro que o próprio cloro, dando origem assim aos íons H_3O^+ (hidrônio ou hidroxônio) e Cl^- (cloreto). Esse fenômeno corresponde à ionização dos ácidos, quando dissolvidos em água (FELTRE, 2004).

6.2 INTERAÇÕES INTERMOLECULARES E PONTO DE EBULIÇÃO

Quanto maior a força das interações entre as moléculas, maior será a energia necessária para rompê-las, conseqüentemente seu PE será maior. Quanto maior o tamanho das cadeias moleculares, ou seja, quanto maior a superfície de contato, maior será o seu PE, devido ao maior número de interações entre as moléculas (SALVADOR et al., 2000, p. 242-243).

Para fazer uma comparação dos PE de diversas substâncias deve-se considerar a interação entre elas e seu tamanho, como na tabela abaixo (SALVADOR et al., 2000).


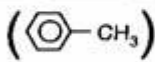
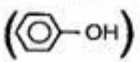
Substância Química	Massa Molecular (g)	Ponto de Ebulição (°C)
Benzeno 	78,11	80
Tolueno 	92,14	110
Fenol 	94,11	182

Tabela 1 – Ponto de ebulição de diferentes compostos orgânicos (In: <http://www.sosquimica.com.br>, 2007).

6.3 INTERAÇÕES INTERMOLECULARES, POLARIDADE E SOLUBILIDADE

Tomando como exemplo um copo contendo água e álcool, é possível observar que ambos se misturam. Isto ocorre, pois tanto a água quanto o álcool são moléculas polares, portanto o álcool é solúvel em água, já que semelhante dissolve semelhante (FELTRE, 2004).

Em outra situação, como um copo contendo água e óleo, é possível observar claramente que ambos não se misturam, pois as moléculas de água são polares e moléculas, apresentando polos positivos e negativos. Já as moléculas do óleo são apolares, não apresentando nenhum tipo de polo, o que não permite nenhum tipo de interação entre elas (FELTRE, 2004, p.168).

7. MATERIAIS E MÉTODOS

7.1 MATERIAIS

- Autoclave (PHOENIX, MODELO AV 50)
- Erlenmeyer
- Tubo de Ensaio
- Placa de Petri
- Papel filtro Wattman nº2
- Pinça
- Alça de Platina
- Alça de Drigask
- Agar Baird-Paker
- Extrato de Própolis Verde
- Extrato de Própolis Vermelha
- Proveta
- Pipeta
- Estufa Bacteriológica MA 032 - 37°C
- Balança Radwag WTB 3000
- Béquer
- Balão Volumétrico
- BHI Brain Heart Infusion–Oxoid
- Fluxo laminar TRox serie 1341

7.2 EXTRATOS DE PRÓPOLIS

O extrato de própolis verde utilizado foi produzido na cidade de Bambuí, Minas Gerais, com fabricação em outubro de 2010 e validade até outubro de 2012.

O extrato de própolis vermelha utilizado foi produzido em Alagoas, com fabricação em março de 2011 e validade até março de 2013.

7.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

7.3.1 Ensaio Biológico

7.3.1.1 Meio de Cultura

Foi utilizado para o teste o Agar Baird-Parker (Tabela 2) e o Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) (Tabela 3) como meio de cultura.

Caseína Enzimática Hidrolizada	10 g/L
Extrato de Carne	5 g/L
Extrato de Levedura	1 g/L
Glicina	12 g/L
Piruvato de Sódio	10 g/L
Cloreto de Lítio	0,5 g/L
Ágar	20 g/L

Tabela 2 – Fórmula aproximada por litro (BP), meio seletivo para *Staphylococcus aureus*.

Esse ágar é destinado ao isolamento e enumeração de estafilococos coagulase positivo em alimentos e materiais farmacêuticos. O meio é recomendado pela Pharmacopoeia americana (USP). O ágar Baird-Parker contém cloreto de lítio e telurito de potássio como inibidores de microflora acompanhante, enquanto o piruvato e a glicina presentes na composição do meio estimulam o crescimento estafilococos.

Infusão de Cérebro de Carne	200g/L
Infusão de Coração de Boi	250g/L
Proteose Peptona	10g/L
Glicose	2g/L
Cloreto de Sódio	5g/L
Fosfato Dissódico	2,5g/L

Tabela 3 – Fórmula aproximada por litro (BHI), meio de enriquecimento.

O BHI foi utilizado para reativação das colônias de *Staphylococcus aureus*.

7.3.1.2- Preparo dos meios de cultura

Para o meio BP foi preparado a base diluindo o meio de cultura com água destilada conforme recomendação do fabricante (Acumedia), a qual é de 12g para 200 mL de água. Em seguida foi esterilizado em autoclave á 121°C por 15 minutos, e enriquecido o meio com 20 mL de gema de ovo diluído em 10 mL de NaOH a 0,85% e 10 mL de telurito de potássio e plaqueou-se o meio.

O meio BHI foi preparado diluindo-se o meio com água destilada conforme recomendação do fabricante, a qual era de 18,5g para 500ml de água. Esterilizou-se em autoclave a 121°C por 15 minutos.

Assim como os meios de cultura BP e BHI, a pinça, o papel filtro, a proveta, a água destilada, as placas de Petri e pipetas foram esterilizados em autoclave durante 15 minutos a 121°C.

7.4 TESTE DE DIFUSÃO EM ÁGAR

Foram utilizados no teste para o potencial antimicrobiano os extratos de própolis verde e vermelha, o método de difusão em Agar Baird-parker, que possibilita verificar a existência de alguma atividade inibitória do desenvolvimento da bactéria *Staphylococcus aureus*.

As amostras do microorganismo *Staphylococcus aureus* foram cedidas pelo Centro de Pesquisa em Ciências (CEPECI). Depois de identificadas foram semeadas através de alçada com o auxílio de alça de platina em caldo BHI e incubadas a 37° C por 24h para ativação das colônias. Foram utilizadas pipetas estéreis para pipetar alíquotas de 0,2 mL da suspensão sobre o ABP, o espalhamento foi feito com o auxílio de uma alça de Drigaskl previamente flambada. O teste foi feito em duplicata. As placas foram levadas á estufa por 10 minutos para secagem e após a secagem foram retiradas da estufa para a colocação do disco de papel de filtro. Utilizou-se os discos de papel de filtro Whatman nº2 (125 mm dia/100circles). Nos discos de papel de filtro foram aplicados 3 ml dos respectivos extratos de própolis e , ficando submersos nestes extratos por 15 minutos e então colocados em placas de Petri para secar em estufa a 60°C, por aproximadamente 15 minutos, para eliminação de qualquer resíduo etanólico. Em outros discos foram aplicados 3ml de álcool de cereais, deixando-os imersos por 15 minutos e depois colocados em placas de Petri para secar em estufa a 60°C, por aproximadamente 15 minutos, para eliminação dos resíduos etanólicos. A seguir os discos de papel foram depositados na superfície do ágar de forma equidistante.

Foram feitas uma placa controle contendo somente o meio de cultura BP e o microrganismo *Staphylococcus aureus*; outra contendo o meio de cultura, o microrganismo e os discos de papel sem qualquer extrato ou álcool; outra continha o meio de cultura, o microrganismo e os discos de papel que ficaram imersos no álcool de cereais; outra continha o meio de cultura, o microrganismo e os discos de papel que ficaram imersos em extrato de própolis vermelha; e por ultimo outra contendo o meio de cultura, o microrganismo e os discos de papel que ficaram imersos no extrato de própolis verde.

As placas foram incubadas a 37°C por 48h. Em seguida realizou-se a medição dos halos de inibição do crescimento bacteriano. Considerando-se o produto ativo frente à espécie em estudo, aqueles que produziram halos de inibição.

8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise antimicrobiana foi uma adaptação da metodologia utilizada por Nunes (2009).

A amostra bacteriana avaliada demonstrou-se susceptível aos extratos de própolis vermelha e verde.

A tabela abaixo mostra o resultado da incubação da bactéria de *Staphylococcus aureus* após 48h.

Amostragem	Resultado
Placa controle sem o disco de papel e sem o extrato de própolis	Crescimento bacteriano sem a formação do halo de inibição.
Placa com o disco de papel e sem o extrato de própolis	Crescimento bacteriano sem a formação do halo de inibição.
Placa com o disco de papel e o com o álcool de cereal	Crescimento bacteriano sem a formação do halo de inibição.
Placa com o disco de papel e com o extrato de própolis vermelha	Crescimento bacteriano, mas com formação do halo de inibição em volta do disco de papel.
Placa com o disco de papel e com o extrato de própolis verde	Crescimento bacteriano, mas com formação do halo de inibição em volta do disco de papel.

Tabela 4 – Resultados da incubação da bactéria de *Staphylococcus aureus* após 48h.

A figura 16 mostra o crescimento bacteriano no meio ABP nas placas onde somente foi inoculada a bactéria sem a presença do disco de papel e dos extratos de própolis.



Figura 16 – Crescimento Bacteriano sem a presença do disco de papel e dos Extratos de Própolis.

A figura 17 mostra o crescimento bacteriano no meio ABP nas placas que foram inoculadas somente com a bactéria com os discos de papel sem os extratos de própolis ou álcool.



Figura 17 – Crescimento bacteriano com a presença dos discos de papel, porém sem a presença dos extratos de própolis ou álcool.

Como é possível observar, somente o disco de papel sem a presença dos extratos de própolis não apresentam halo de inibição, mostrando assim que não encontrava-se presente nenhuma substância química que inibisse o crescimento bacteriano.

A figura 18 mostra o crescimento bacteriano no meio ABP nas placas onde a bactéria foi inoculada na presença dos discos de papel que foram submersos no extrato de própolis vermelha e nas placas onde a bactéria foi inoculada na presença dos discos de papel que foram submersos no álcool de cereais. Observou-se a formação do halo de inibição ao redor dos discos de papel com média de 4 mm, comprovando assim a sensibilidade da bactéria *Staphylococcus aureus* ao extrato de própolis vermelha.

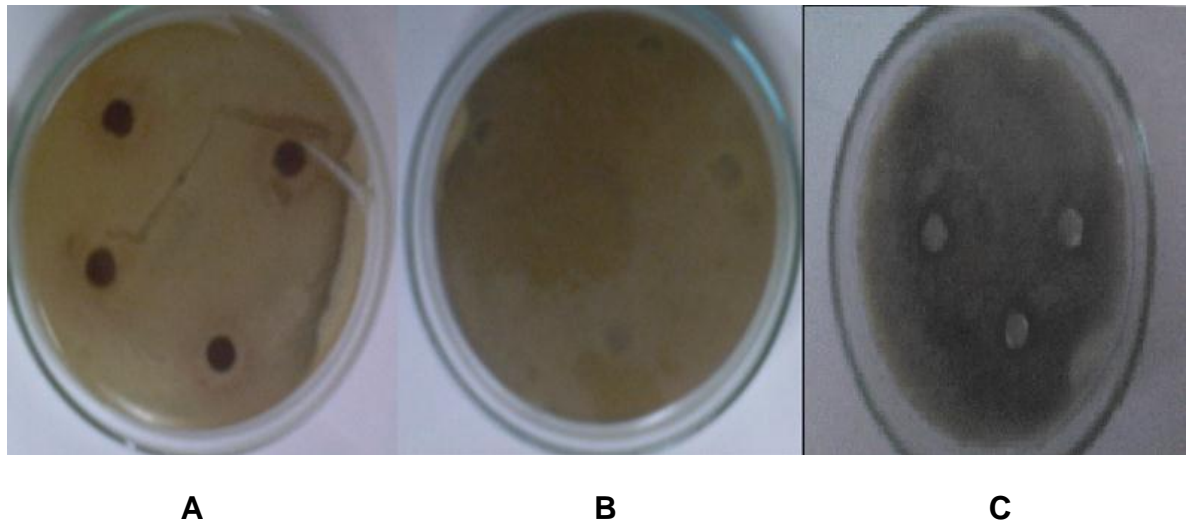


Figura 18 – Crescimento bacteriano com a presença dos discos de papel imersos: A) extrato de própolis vermelha B) apenas o disco de papel e C) disco de papel com álcool.

A figura 19 mostra o crescimento bacteriano no meio ABP nas placas onde a bactéria foi inoculada na presença dos discos de papel que foram submersos no extrato de própolis verde e nas placas onde a bactéria foi inoculada na presença dos discos de papel que foram submersos no álcool de cereais. Observou-se a formação do halo de inibição ao redor dos discos de papel com média de 5,5mm, comprovando assim a sensibilidade da bactéria *Staphylococcus aureus* ao extrato de própolis verde.

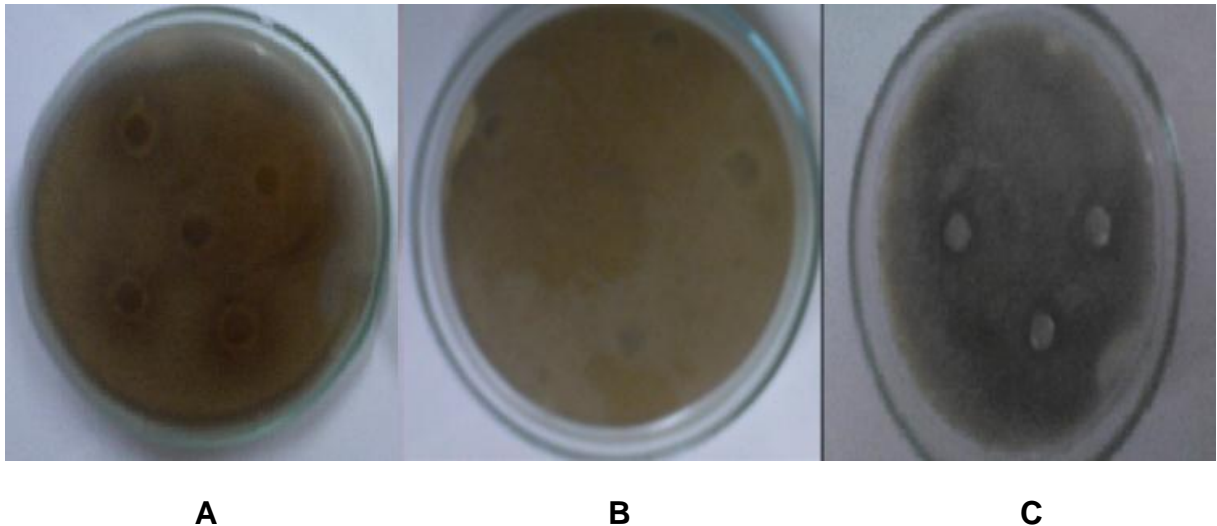


Figura 19 - Crescimento bacteriano com a presença dos discos de papel imersos: A) extrato de própolis verde B) apenas os discos de papel C) disco de papel com álcool.

Pode-se observar então a atividade antimicrobiana dos extratos de própolis vermelha e verde frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*, pois este é do gênero Gram-positivo. Segundo MELANI (2009) esta atividade deve-se a presença de flavonoides, ésteres aromáticos e ácidos que atuam na estrutura da parede celular desse microrganismo.

Observou-se também, que a inibição do microrganismo pelos extratos de própolis ocorreu mesmo sem a presença de álcool, já que o mesmo foi evaporado antes da inoculação dos discos de papel nas placas.

Segundo Nunes (2009) os diâmetros dos halos de inibição de *Staphylococcus aureus* podem variar de 7 a 14 mm. Neste trabalho os halos medidos de inibição de *Staphylococcus aureus* apresentaram uma média de diâmetros de 4mm para o extrato de própolis vermelha e 5,5mm para o extrato de própolis verde. Deve-se ressaltar que fatores como a metodologia adotada no processo de extração da própolis, concentração total de própolis no extrato e o método adotado para a avaliação da inibição do crescimento bacteriano podem modificar completamente o resultado de um experimento em relação ao encontrado por outras pesquisas.

9. CONCLUSÃO

A partir do experimento realizado foi possível concluir que os extratos de própolis vermelha e verde mostraram-se ativos frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*.

O uso destes extratos de própolis como uma alternativa para substituição de fármacos sintéticos pode ser uma saída eficaz para a manutenção da saúde da população, visto que este microrganismo está presente em grande parte das infecções de boca e garganta.

Como a utilização de fármacos naturais tem sido cada vez mais difundida, este estudo pode auxiliar na comprovação da eficácia dos mesmos frente ao microrganismo testado e vários outros, incentivando a utilização de fármacos naturais pela população em geral como uma alternativa de baixo custo.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, Irineu L. de; ALVES, Leonardo A.; LEMOS, Telma L. G.; MONTE, Francisco J. Q.; BRAZ-FILHO, Raimundo. Ácido Canárico (3,4-seco *derivado do* Lupano) em Própolis do Cará. **Química Nova**, v. 30, n. 34, 2007, 828-831.

ALENCAR, Severino Matias de; AGUIAR, Cláudio Lima; PAREDES-GUZMÁN, Júlio; PARK, Yong Kun. Composição de *Baccharis dracunculifolia*, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, 2005, p. 909-915.

BANDEIRA, Paulo N.; LEMOS, Telma L. G.; COSTA, Sônia M. O.; SANTOS, Hécio S. dos. Obtenção de derivados da mistura triterpenoídica α - e β -amirina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, 2007, p. 204-208.

BRAZ FILHO, Raimundo, Contribuição da Fitoquímica para o Desenvolvimento de um País Emergente, **Química Nova**, v. 33, nº 1, 2010, p. 229-239.

CABRAL, Ingridy Simone Ribeiro; OLDINI, Luiza Cadorin; PRADO, Adna; bezerra, Mara Neves; ALENCAR, Severino Matias de; IKEGAKI, Masaharu; ROSALEN, Pedro Luiz. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, 2009, p.1523-1527.

CASTRO, Myrella Léssio; CURY, Jaime Aparecido; ROSALEN, Pedro Luiz; ALENCAR, Severino Matias, IKEGAKI, Masaharu; DUARTE, Simone; KOO, Hyun. Própolis do Sudeste e Nordeste do Brasil: Influência da Sazonalidade na Atividade Antibacteriana e Composição Fenólica. **Química Nova**, v. 30, n. 7, 2007, p.1512-1516.

COUTINHO, Marcela A. S.; MUZITANO, Michele F.; COSTA, Sônia S. Flavonóides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, nº 3, 2009, p. 241-256.

CURI, Denise. Polímeros e Interações Intermoleculares. **Química Nova na Escola**, n.º 23, 2006.

DAUGSCH, Andreas. **A Própolis Vermelha do Nordeste do Brasil e suas Características Químicas e Biológicas**. 2007. 133p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, 2007.

DEWICK, P. M., **32 Plantas com inibidores tumores**. Disponível em: <http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmacologicas/ap-bot-farm2c/evanswc01/32.html>. Acesso em: 13 jul de 2011.

Éster Feniletil do Ácido Caféico. Disponível em: <<http://www.hschems.com.pt/2-phenethyl-caffeate-3g.html>>. Acesso em: 18 de set. de 2011

FELTRE, Ricardo. **Química Geral**. 6ª ed. São Paulo: Editora Moderna, 2004.

FISCHER, G; HUBNER, S. O.; VARGAS, G. D.; VIDOR, T. Imunomodulação pela Própolis. **Arq. Inst. Biol.**, v. 75, n.º. 2, 2008, p. 247-253.

GIORDAN, Marcelo. O Papel da Experimentação no Ensino de Ciências. **Química Nova na Escola**. n.º 10, 1999, p. 43-49.

GUIMARÃES, Cleidson Carneiro. Experimentação no ensino de Química: Caminho e Descaminhos Rumo à Aprendizagem Significativa. **Química Nova na Escola**. v. 31, n. 3, 2009, p. 198-202.

JUNIOR, Ary Fernandes; LOPES, Marcelo Milanda Ribeiro; COLOMBARI, Viviani; MONTEIRO, Ayril Cecília Marinho Monteiro; VIEIRA, Eliane Passarelli. Atividade

antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, 2006, p. 294-297.

LINS, Alvanice Silva, SILVA, Ana Paula Pereira da; BANDEIRA, Prof. Dr. Marcus Luciano Souza de Ferreira; CASTRO, Prof^a. Dr^a. Marina Siqueira de . Implantação das análises físico-químicas da própolis no laboratório da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola. **Revista Eletrônica Multidisciplinar Pindorama do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia-IFBA**, v. 1, n.1, agosto, 2010.

LUSTOSA, Sarah R.; GALINDO; Alexandre B.; NUNES, Lívio C.C.; RANDAU, KARINA, P.; NETO, Pedro J. Rolim. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 18, n. 3, 2008, p. 447-454.

MARCUCCI, Maria Cristina; WOISKY, Ricardo Gomide; SALATINO, Antônio. **Uso de Cloreto de Alumínio na Quantificação de Flavonóides em Amostras de Própolis.** Disponível em: <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/46/artigo.htm>>. Acesso em 13 de jul. de 2011.

MELANI, Andréa Carla Franchini. **Atividade Antibacteriana da Própolis de *Apis Mellifera* sobre *Enterococcus faecalis*: Estudo in vitro e ex vivo.** 2009. 63p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, 2005, p. 405-411.

NASCIMENTO, Evandro A.; CHANG, Roberto; MORAIS; Sérgio A. L.; PILÓ-VELOSO, Dorila; REIS, Débora Costa. Um marcador químico de fácil detecção para a própolis de Alecrim-do-Campo (*Baccharis dracunculifolia*). **Revista Brasileira de farmacognosia**, v. 17, n. 3, 2008, p. 379-386.

NUNES, Emila Francisca Virginio. **Estudo da Própolis como inibidor de Microrganismos**. 2009. 59p. Trabalho de Conclusão de Curso – Fundação Educacional do Município de Assis, Assis, 2009.

NUNES, Lívio César Cunha; GALINDO, Alexandre Bezerra; DEUS, Annalu da Silva Oliveira de; RUFINO, Daniel Arcanjo; RANDAU, Karina Perrelli; XAVIER, Haroudo Satiro; CITÓ, Antônia Maria das Graças Lopes; NETO, Pedro José Rolim. Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 19, n. 2B, 2009, p. 524-529.

OLDINI, Tatiane Luiza Cadorin. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzidas por abelhas da espécie *Apis mellifera***. 2007, 104 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

OLIVEIRA, Luis Fernando Silva de. **Prospecção de novos produtos naturais e sintéticos bioativos com atividade antimicrobiana frente a *Helicobacter Pylori***. 2010. 121p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Bandeirante de São Paulo, São Paulo, 2010.

OLIVEIRA, Sheila Rodrigues; GOUVEIA, Viviane de Paula; QUADROS, Ana Luiza de. Uma Reflexão sobre Aprendizagem Escolar e o Uso do Conceito de Solubilidade/Miscibilidade em Situações do Cotidiano: Concepções dos Estudantes. **Química Nova na Escola**. v. 31. n 1, 2009, p. 23-30.

PRZYTYK, Eliane; PEREIRA, Alberto Dos Santos; CASTRO, Solange Lisboa de; BANKOVA, Vassya; AQUINO NETO, Francisco Radler de. **Estudo Sistemático de Flavonóides em Própolis Búlgara por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução e Alta Temperatura-Espetrometria de Massas**. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/1050/index.html>>. Acesso em: 18 de set. de 2011.

Ponto de ebulição de diferentes compostos orgânicos, 2007. Disponível em: <<http://www.sosquimica.com.br/unit2007.htm>>. Acesso em: 25 set. de 2011.

Rabo-de-bugio (Dalbergia ecastophyllum). Disponível em: <http://131.230.176.4/cgi-bin/dol/dol_terminal.pl?taxon_name=Dalbergia&rank=genus>. Acesso em: 20 abr. de 2011

REIS, Martha. **Química Integral**, v. único. São Paulo: Editora FTD S.A., 1993

ROCHA, Willian R. Interações Intermoleculares. **Química Nova na Escola**. nº. 4, 2001, p. 31-36.

RIGHI, Adne Abbud. **Perfil Químico de Amostras de Própolis Brasileiras**. 2008. 102p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SALVADOR, Edgard; USBERCO, João. **Química Geral**. 9ª ed. São Paulo: Editora Saraiva, 2000.

SILVA, Maria do Socorro Sousa; CITÓ, Antônia Maria das Graças Lopes; CHAVES, Mariana H.; LOPES, José Arimatéia Dantas. Triterpenóides Tipo Cicloartano de Própolis de Teresina-PI, **Química Nova**, v. 28, n. 5, 2005, 801-804.

SILVA, Rosilene Agra da; RODRIGUES, Adriana Evangelista; RIBEIRO, Maria Cristina Marcucci; CUSTÓDIO, Ângela Ramalho; ANDRADE, Norma Estefânia Domingues; PEREIRA, Walter Esfraim. Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, 2006, p.1842-1848.

SILVA, Tania Maria Sarmiento da; CARVALHO, Mario Geraldo de; BRAZ-FILHO, Raimundo. Estudo Espectroscópico em Elucidação Estrutural de Flavonóides de *Solanum jabrense* Agra & Nee e *S. paludosum* Moric. **Química Nova**, v. 32, n. 5, 2009, 1119-1128.

SILVA, Theresinha. **Alecrim-do-Campo**. Disponível em: <<http://plantasmilagrosas.blogspot.com/2009/06/alecrim-do-campo-nome-cientifico>>.html. Acesso em: 12 jul. de 2011

SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos Fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, v. 15, n 1, 2002, p. 71-81.

SOUSA, João P. B.; FURTADO, Niege A.J.C.; JORGE, Raquel; SOARES, Ademilson E.E.; BASTOS, Jairo K. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 1, 2007, p. 85-93.

TAVARES, Leonardo Carvalho; LEMOS, Telma Leda Gomes de; ARRIAGA, Ângela Martha Campos; SANTIAGO, Gilvandete Maria Pinheiro; BRAZ-FILHO, Raimundo. Estudo Químico de uma Amostra de Própolis Verde de Passa Quatro, Minas Gerais, Brasil. **Química Nova**, v. 33, n. 10, 2010, p. 2051-2054.

VARGAS, Agueda Castagnade; LOGUERCIO, Andrea Pinto; WITT, Niura Mazzini; COSTA, Mateus Matiuuzzi da; SILVA, Marina Sá e; VIANA, Luciane Ribeiro. Atividade antimicrobiana “invitro” de extrato alcóolico de própolis. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, 2004, p. 159-163.