



ANÁLISE QUÍMICA DE PRÓPOLIS E EXTRATO DE PRÓPOLIS VISANDO A PRODUÇÃO DE ENXAGUANTES BUCAIS

Larissa dos Santos Fávaro¹, Mariana Inocencio Manzano¹, José Eduardo Gonçalves²

RESUMO: A própolis é uma substância resinosa elaborada pelas abelhas da espécie *Apis mellifera*, que apresenta uma composição química complexa e variável, e dentre as várias substâncias que a compõe, os flavonóides e os fenóis são considerados os compostos biologicamente ativos. O objetivo deste trabalho foi realizar a análise química de diferentes amostras de própolis obtidas das regiões de Cambará, Cianorte, Maringá, Paranavaí, Uniflor, Iguatemi, Ilha Grande, Porto Camargo e São Jorge do Patrocínio, e seus respectivos extratos visando a produção de enxaguantes bucais a serem empregados em escolares. Estas amostras foram analisadas, sendo realizadas as análises de teor de umidade, teor de cinzas e determinação de resíduos insolúveis, solúveis e cera, e os extratos etanólicos de própolis (EEPs) preparados a 8%, em aparelho Soxhlet, foram submetidos a análises de avaliação da capacidade antioxidante que foi determinada pela oxidação acoplada do sistema b-caroteno/ácido linoleico, foi realizada também a análise por cromatografia líquida de alta eficiência – HPLC e análise da ação dos EEPs sobre o revestimento dental por microscopia eletrônica de varredura. Os resultados obtidos demonstram que as própolis analisadas são própolis verde, por apresentar o Artepillin C como substância majoritária, além disso, foram identificadas a presença de várias substâncias que apresentam comprovadamente ação anti-inflamatória e antisséptica, que podem inibir a proliferação bacteriana, apresentando, assim, grande potencial para serem usadas em solução como enxaguantes bucais.

PALAVRAS-CHAVE: Própolis; Extrato de própolis; Análise por HPLC

1 INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância resinosa produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera* (Park et al., 1998a), apresenta uma composição química complexa (Burdock, 1998; Boyanova et al., 2006) que inclui flavonóides (como a galangina, quercetina, pinocembrina e kaempferol), ácidos aromáticos e ésteres, aldeídos e cetonas, terpenóides e fenilpropanóides (como os ácidos caféico e clorogênico), esteróides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos e vários outros compostos em pequenas quantidades (Hu et al., 2005; Hayacibara et al., 2005; Ozkul et al., 2004; Matsuda et al., 2002; Rocha et al., 2003; Cheng et al., 2013).

Fatores como, a origem botânica e a época de coleta podem influenciar a composição química da própolis (Fernandes et al., 2007), bem como sua coloração que pode variar entre amarela, parda, vermelho escuro, verde limão, cinza esverdeado e café (Couto & Couto, 2002), dependendo do local – savana, florestas tropicais, deserto, regiões litorâneas e montanhosas – onde é produzida. (Bankova et al., 1998; Marcucci, 2000; Bankova, 2005b), além da raça das abelhas e densidade da colmeia (Costa & Oliveira, 2005).

A própolis tem sido objeto de estudos farmacológicos devido às suas propriedades antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiinflamatória, hepatoprotetora, antioxidante, antitumoral, imunomodulatória, citostática, etc. (Bankova, 2005; Kosalec et al., 2005; Alencar et al., 2005; Simões et al., 2008), onde dentre os compostos que a compõem os flavonóides podem ser considerados os principais compostos responsáveis pelos seus efeitos terapêuticos (Burdock, 1998; Boyanova et al., 2006), no entanto, não são os únicos, apresentando diversos outros componentes relacionados às suas propriedades medicinais (Awale et al., 2005), assim como alguns ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos fenólicos, alcoóis e acetonas (Endler et al., 2003).

Atualmente, a própolis é indicada para melhorar a saúde, prevenir doenças como inflamação, doenças do coração, diabetes e câncer (Kadota et al., 2002) e tratar problemas que incluem mau hálito (halitose), eczema, infecções na garganta, úlceras e infecções urinárias (Pereira et al., 2002), desta forma, se faz necessária sua padronização química para garantir qualidade, eficácia e segurança na sua utilização como produto com finalidade terapêutica (Cheng et al., 2013).

Devido às inúmeras propriedades biológicas da própolis, seu uso comercial é amplo em produtos cosméticos, farmacêuticos e de higiene pessoal, onde comumente para elaboração destes é utilizado álcool de cereais para realização da extração, que confere um sabor não agradável na formulação, o que levou a proposta

¹ Acadêmicas do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UniCesumar (PROBIC). larissa_favaro@hotmail.com; mari.manza@hotmail.com

² Orientador e docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. jose.goncalves@unicesumar.edu.br



de novos métodos de extração, que apresentam baixo teor alcoólico ou até mesmo isenção deste, nos quais conserva-se as características organolépticas da própolis (Buriol et al., 2009)

Um dos principais e mais comuns desafios na prevenção em saúde bucal é o controle da cárie dentária e da inflamação gengival (Carvalho et al., 1991; Sekino et al., 2003; Sreenivasan et al., 2003), desta forma, sua incorporação em produtos de higiene oral tanto na formulação de dentífrícios (BAKILINI; LARA; PANZERI, 1996; PANZERI et al., 1999) como no emprego em soluções de bochecho, tem sido estimulada devido resultados promissores, onde obteve-se redução dos níveis de *S. mutans* (MORAES et al, 1996, STEINBERG; KAINÉ; GEDALLIA, 1996; ZÁRATE-PEREIRA, 2003), do acúmulo de biofilme (KOO et al., 2002) e da doença gengival (DUARTE; KFOURI, 1999; MOTA, 2000), por apresentar atuação expressiva contra bactérias colonizadoras do biofilme, (GEBARA; ZARDETTO; MAYER, 1996), além de possuir efeito inibitório sobre a síntese de glucano (KOO et al, 2000).

A solução para bochecho de própolis a 6,25% reduziu significativamente os níveis de *Streptococcus mutans*, atuou sobre as condições de doença gengival e acúmulo de biofilme, demonstrando comportamento semelhante ao da clorexidina, podendo ser indicado como agente químico terapêutico (ALMEIDA et al., 2006).

A utilização de extratos etanólicos de própolis (EEPs) no campo da Cariologia tornou-se realidade quando estudos relataram sua atividade sobre a inibição de agentes, microorganismos relacionados à cárie dentária (KOO et al., 2005; ALMEIDA et al. 2006) e sobre o processo de formação do biofilme cariogênico / fatores de virulência bacteriana que influenciam na cariogenicidade deste (KOO et al., 2002; ALMEIDA et al., 2006). O presente trabalho objetiva analisar quimicamente as amostras de própolis obtidas das regiões de Maringá-PR e seus extratos, identificando suas composições químicas por HPLC e LC-MS, para posterior utilização destes na formulação de enxaguante bucal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas nove (10) amostras de própolis de diversas regiões do Estado do Paraná, quanto às suas características químicas, ação antibacteriana e efeito do extrato alcoólico sobre o revestimento dental.

As própolis analisadas foram coletadas de colméias de abelhas *Apis mellifera* do tipo Langstroth, sendo as amostras adquiridas através de apiários das regiões de Cambará, Cianorte, Maringá, Paranavaí, Uniflor, Iguatemi, Ilha Grande, Porto Camargo e São Jorge do Patrocínio.

2.1 ANÁLISE DA PRÓPOLIS UMIDADE

Para análise de umidade, foi pesado aproximadamente 1,0 g de cada amostra de própolis em um recipiente apropriado. Depois de pesadas, as amostras foram levadas à estufa a 70°C por 1 hora, em seguida as amostras passaram por resfriamento e foram pesadas novamente. O procedimento foi repetido até obter-se peso constante.

2.2 TEOR DE CINZAS

Em relação a cinzas, aproximadamente 2,0 g de cada amostra de própolis foram pesadas em cadinho, em seguida, os cadinhos foram levados à mufla na temperatura de 600°C, deixando-se por aproximadamente 2 horas. Esta análise foi realizada em triplicata e com os dados, foi calculada a porcentagem de cinzas.

2.3 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS INSOLÚVEIS, SÓLIDOS SOLÚVEIS E CERA

Para a determinação dos valores de resíduos insolúveis, sólidos solúveis e cera, foi realizado à extração em aparelho tipo Soxhlet. Em um cartucho, feito com papel filtro de peso conhecido, após secagem em estufa, foi pesado aproximadamente 20,0 g da amostra e colocado no aparelho Soxhlet, para extração com álcool de cereal por 24 horas. Ao término do processo, o precipitado obtido da extração em Soxhlet foi colocado em um béquer, esfriado à temperatura ambiente e levado à geladeira para posterior filtragem em funil de Buchner forrado com papel filtro apropriado.

2.4 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE PRÓPOLIS (EEP)

As amostras de própolis (20 g) foram extraídas com etanol (250 mL) durante 24 h, a 70 °C, em aparelho Soxhlet. Os extratos obtidos foram filtrados e acondicionados em vidro âmbar a 5 °C. Todos os EEP das amostras foram preparados a 8%.



2.5 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A capacidade antioxidante foi determinada pela oxidação acoplada do sistema b-caroteno/ ácido linoleico (Alencar 2002, Kumazawa et al. 2003, Matsuda 2006). Em um béquer, foram adicionados 20 µL de b-caroteno, 40 µL de ácido linoleico e 300 mg de Tween 40, os quais foram dissolvidos em 1 mL de clorofórmio, que foi evaporado, posteriormente. O resíduo obtido da evaporação foi dissolvido em 100 mL de água deionizada, 5 mL da solução foram transferidos para tubos de ensaio contendo uma alíquota do extrato de própolis equivalente à concentração de 100 ppm. Os tubos foram incubados a 40°C, para a reação de oxidação e a manutenção da cor alaranjada do b-caroteno, e a reação foi acompanhada em espectrofotômetro Varian, pela medida de absorbância a 470 nm, em intervalos de 60 minutos, durante o período de 3 horas, sendo a primeira leitura foi realizada à temperatura ambiente.

Todas as determinações foram feitas em triplicata e acompanhadas por um controle sem antioxidantes e outro com solução de butilhidroxitolueno (BHT). A capacidade antioxidante foi calculada por meio da seguinte equação:

$$\%CA = 100 - \frac{DAA}{DAC} \times 100$$

onde CA = capacidade antioxidante, DAA = decaimento de absorbância da amostra e DAC = decaimento de absorbância do controle.

2.6 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – HPLC

Para as análises cromatográficas dos EEPs, 1 mL de cada extrato foi adicionado em 15 mL de água ultrapura (sistema Milli-Q, Millipore, Billerica, USA) em um funil de separação contendo 25 mL de acetato de etila. A solução obtida foi transferida para um béquer contendo sulfato de sódio anidro, e em seguida deixada em recipiente adequado em banho-maria (70°C) para evaporação dos compostos líquidos. O resíduo seco obtido foi retomado em metanol, filtrado em membrana Milipore® com porosidade de 0,45 µm e injetado no cromatógrafo.

Na análise foi utilizado um sistema HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência) acoplada a um detector UV/Vis, utilizando uma coluna Phenomenex® Luna PFP (2) (pentafluorofenil), com partículas de 5µ, 100 Å, com 250 x 4,6 mm e pré-coluna do mesmo material e porosidade, como fase estacionária. Duas fases móveis foram utilizadas: solução aquosa contendo ácido acético 5% (v/v) e metanol (Methanol Baker HPLC Solvent, Mallinckrodt Baker Inc., Philipsburg, NJ, USA) e solução aquosa de acetonitrila 2,5% (v/v) e metanol, com fluxo de 1,0 mL/minuto, também para otimizar as condições cromatográficas. A detecção é realizada a 310 nm e o tempo de corrida foi de 30 minutos. Para as análises foram utilizadas alíquotas de 20 µL, com três repetições para cada extrato analisado. Os resultados foram expressos em mg/g de ESP. Na fase móvel utilizou-se gradiente não-linear com metanol, água ultrapura e ácido acético a 5 %, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1 – Sistema eluente em gradiente não-linear utilizado como fase móvel

Tempo (minutos)	Metanol (%) ^a
0.00	55
5.00	58
7.50	62
25.00	85
30.00	100

^a Fase aquosa contendo ácido acético 5%

2.7 ANÁLISE DA AÇÃO DOS EEPs SOBRE O REVESTIMENTO DENTAL POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Dentes decíduos e permanentes foram lavados com água e sabão, e em seguida limpos com álcool. Os mesmos foram colocados em tubos de ensaio previamente identificados, contendo os extratos de própolis e para comparação foi realizado o mesmo procedimento com a clorexidina 0,12%. Durante dois meses, estes foram imersos e retirados das soluções semanalmente e como controle foi mantido dentes limpos sem imersão em qualquer substância. Após este período e com os dentes secos, foram feitos cortes com brocas diamantadas em forma de lápis, número 1092, com motor de alta rotação. Os fragmentos (decíduos e permanentes), que contém esmalte, dentina e polpa foram colocados sobre a superfície de uma fita dupla face aderida a um porta amostra de alumínio e em seguida depositado em sua superfície uma fina camada de substância condutora (ouro) através de um metalizador Balzer, modelo MED 020. As micrografias foram obtidas em um microscópio SHIMADZU modelo SS 550, equipado de microssanda com detector de energia dispersiva (EDS). A tensão de aceleração utilizado foi de 15 KeV.



3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 ANÁLISE QUÍMICA DA PRÓPOLIS

Todas as amostras de própolis utilizadas nas análises foram colhidas de colméias de *Apis mellifera*, do tipo Langstroth. A Tabela 2 apresenta os valores médios para o teor de cinzas, umidade, resíduos insolúveis, sólidos solúveis e cera para todas as amostras de própolis analisadas, de acordo com as regiões de coleta.

Tabela 2-Determinação do Teor de Cinzas, Umidade, Resíduos Insolúveis, Sólidos Solúveis e Cera.

	Teor de Cinzas (%)	Umidade (%)	Resíduos Insolúveis (%)	Sólidos Solúveis em Etanol (%)	Teor de Cera (%)
Cambará	2,51 ± 0,09	2,09 ± 0,08	24,68 ± 0,51	65,40 ± 0,52	10,31 ± 0,29
Cianorte	3,45 ± 0,05	8,21 ± 0,32	33,93 ± 3,26	56,40 ± 9,04	2,33 ± 0,23
Ilha Grande A	3,52 ± 0,07	6,98 ± 0,20	35,97 ± 0,77	60,88 ± 2,89	2,49 ± 0,20
Maringá	3,41 ± 0,05	4,91 ± 0,27	30,34 ± 4,70	53,68 ± 5,70	5,58 ± 1,49
Paranavaí	2,72 ± 0,07	9,13 ± 1,81	29,28 ± 1,79	54,60 ± 1,38	6,93 ± 0,52
Uniflor	2,60 ± 0,04	5,62 ± 0,26	34,12 ± 2,09	50,92 ± 1,45	11,09 ± 1,59
São Jorge do Patrocínio	2,07 ± 0,04	4,37 ± 0,39	30,39 ± 2,05	61,37 ± 1,27	6,30 ± 0,62
Porto Camargo	3,37 ± 0,05	4,69 ± 0,7	34,21 ± 2,93	60,44 ± 1,77	7,09 ± 0,89
Ilha Grande B	3,29 ± 0,05	5,95 ± 0,24	27,99 ± 2,14	61,07 ± 1,39	5,80 ± 0,65
Iguatemi (caixa11)	2,46 ± 0,04	5,56 ± 0,74	27,31 ± 0,65	55,25 ± 1,71	5,66 ± 0,06

Observou-se que entre as diferentes amostras de própolis estudadas o teor de cinzas com melhor média foi a de São Jorge do Patrocínio com 2,07%, mostrando ser a que resultou menor quantidade de resíduos inorgânicos, assim, através dos resultados todas as amostras não apresentam diferenças significativas no teor de cinzas e observa-se também que todos os valores encontrados para as colheitas estão de acordo com a Legislação Vigente (BRASIL, 2002). Esta determinação é importante podendo detectar adulterações no produto, principalmente nos que são comercializados em pó, onde a adição de elementos como terra, por exemplo, resultaria em valores elevados de cinzas. GARCIA et al. (1999/2000), analisando a própolis do Paraná, encontrou valores para cinzas (3,56% no verão), valor este superior a todos as amostras analisadas neste trabalho.

Para o teor de umidade houve uma variação grande entre 2,09% e 9,13% para as amostras estudadas, sendo a própolis de Cambará com o menor teor de umidade. Para este parâmetro, o teor de umidade deve ser inferior a 8% para garantir a qualidade da própolis (BRASIL, 2002), o que não ocorreu para as própolis de Cianorte (8,21 %) e Paranavaí (9,13 %), que excederam o limite do Ministério da Agricultura, porém deve-se considerar que podem ocorrer variações pelas condições de armazenamento e manipulação.

Os resultados para resíduos insolúveis e sólidos solúveis em etanol estão de acordo com a legislação, sendo que para todas as amostras os valores ficaram abaixo de 40% e acima de 25%, respectivamente (BRASIL, 2002). Estes parâmetros de resíduos insolúveis e sólidos solúveis estão altamente relacionados ao solvente utilizado e a solubilidade da amostra no mesmo (FUNARI et al., 2006).

Comparando-se os dados determinados pelas amostras de própolis neste estudo com os valores da Legislação Vigente (BRASIL, 2002), constatou-se que os resultados obtidos para o teor de cera mostram que todas as própolis estão de acordo com o exigido, pois apresentam valores entre 2,33% e 11,09% de cera, percentagens, que estão abaixo do permitido, que é de 25% de cera. A porcentagem de cera deve ficar abaixo de 25%, pois as substâncias que compõem a cera não são consideradas farmacologicamente ativas.

3.2 ANÁLISE QUÍMICA DOS EXTRATOS DE PRÓPOLIS

3.2.1 ANÁLISE DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A capacidade antioxidante (CA) foi determinada em porcentagem através da porcentagem de oxidação acoplada do sistema b-caroteno/ ácido linoleico. A Tabela 3 descreve os resultados obtidos para a determinação da capacidade antioxidante.

A análise mostra que os extratos de própolis apresentam uma excelente atividade antioxidante frente ao sistema b-caroteno/ ácido linoleico, com os resultados variando entre 81,84% e 92,95%, com o destaque para a amostra de própolis obtido da Ilha Grande que apresenta a melhor atividade antioxidante.



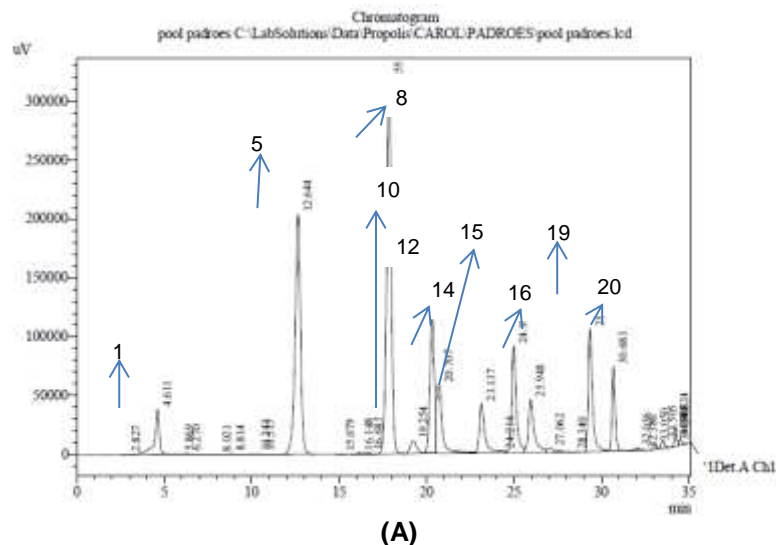
Tabela 3 - Determinação da capacidade antioxidante pelo sistema b-caroteno/ ácido linoleico

	Cambará	Cianorte	Ilha Grande A	Maringá UEM	Paranavaí	Uniflor
CA (%)	92,70 ± 0,44	90,28 ± 0,59	87,99 ± 0,36	81,84 ± 0,37	90,22 ± 0,82	83,33 ± 0,45
	São Jorge do Patrocínio	Porto Camargo	Ilha Grande B	Iguatemi (caixa 11)		
CA (%)	91,77 ± 0,37	91,61 ± 0,43	92,95 ± 0,54	83,73 ± 0,45		

Os componentes ativo biologicamente na própolis estão associados aos diferentes flavonóides fenólicos e seus derivados ésteres e seu efeito correlaciona-se diretamente com as atividades anti-inflamatória e hepatoprotetora. Segundo alguns estudos relatados na literatura científica (KOSALEC et al., 2007; MIGUEL et al., 2010), quanto maior a concentração de polifenóis presentes no extrato de própolis, maior será sua capacidade antioxidante e dentre estes compostos podemos destacar a substância química CAPE (fenetil éster do ácido caféico - Tabela 4) como uma das mais potentes substâncias presentes na própolis (FAROOQUI e FAROOQUI, 2010).

3.3 ANÁLISE POR HPLC

A Figura 1 mostra o cromatograma da mistura de padrões (Figura 1A) e o cromatograma obtido para as amostras de extratos de Própolis (Figura 1B). Cada padrão também foi analisado individualmente e sempre nas mesmas condições cromatográficas. Em todas as amostras de extratos de própolis o perfil cromatográfico foi muito parecido, com pequenas mudanças nas intensidades dos picos ou até mesmo uma diferença nos tempos de retenção, quando comparados com os padrões. Nestes extratos de própolis foram identificados uma série de substâncias através da comparação com os padrões (Tabela 4). A identificação foi realizada através da comparação com os respectivos tempos de retenção das substâncias padrões injetadas nas mesmas condições cromatográficas.



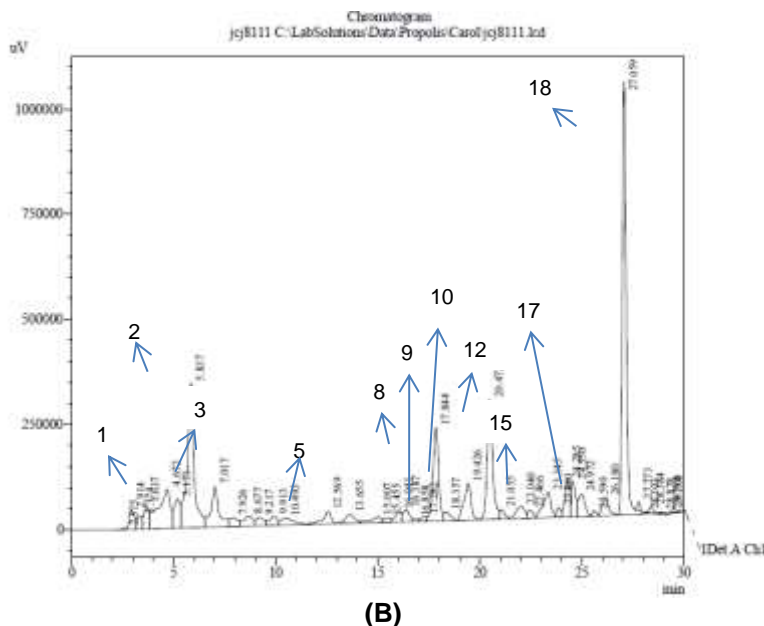


Figura 1- Cromatograma obtido por HPLC. (A) mistura de padrões, (B) extrato de própolis de Ilha Grande.

Para as amostras de extrato de própolis, seis compostos de ácidos fenólicos (Tabela 4) foram identificados: ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, CAPE, drupanina e artepillin C, bem como a presença dos flavonóides (Tabela 4): apigenina, galangina, isorhamnetina, pinobankisina e rhamnazina. Este resultado mostra a importância de utilizar os ácidos fenólicos (ácido caféico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, CAPE, drupanina e artepillin C) e flavonóides (apigenina, galangina, isorhamnetina, pinobanksina e rhamnazina), como marcadores para quantificar própolis e seus produtos derivados.

Entre todos os compostos já identificados na própolis, Artepillin C é o composto químico (estrutura na Tabela 4) que atrai a atenção de pesquisadores, devido a suas inúmeras propriedades biológicas. Devido aos altos níveis de Artepillin C, a própolis brasileira tem sido amplamente estudada por pesquisadores em todo o mundo, especialmente o "própolis verde". (CHANG et al., 2008).

Através dos resultados obtidos neste trabalho e de informações obtidas na literatura, a própolis usada neste estudo pode ser considerada como sendo própolis verde, porque, entre os compostos fenólicos identificados, Artepillin C constitui a principal substância química (Figura 1B). Diferentemente da própolis vermelha onde a concentração do Artepillin C não é a predominante no extrato de própolis.

Através da análise dos cromatogramas representados na Figura 1 é possível observar que todas as amostras de própolis apresentam as mesmas características químicas onde predomina os compostos 1, 2, 5, 8, 12 e 18. Já nos cromatogramas obtidos para os extratos de própolis de Maringá, Cianorte, Paranavaí e Ilha Grande apresentam o composto 12 com concentrações similares ao pico 8, diferentemente do cromatograma obtido do extrato de própolis de Uniflor que não apresenta o composto 12 (CAPE). Para todas as amostras de própolis analisadas de diferentes cidades do Paraná foi possível identificar o composto pinobanksina em concentrações parecidas e também a presença de ácido ferúlico.

Devido à variação na composição química da própolis, é necessária uma padronização destes extratos de própolis. (SALATINO et al., 2011). Através das análises dos cromatogramas, pode-se verificar que, em função da concentração de própolis, diferentes compostos fenólicos são extraídos a partir da própolis, resultando em extratos com diferentes propriedades biológicas.

Tabela 4: Substâncias identificadas através da análise de HPLC

Compostos	Tempo de retenção (min)	Substância identifica	Estrutura
1	~ 4,48	Ácido caféico	<chem>O=C(O)/C=C/c1ccc(O)c(O)c1</chem>
2	~ 5,6	Ácido p-cumárico	<chem>O=C(O)/C=C/c1ccc(O)cc1</chem>
3	~ 6,95	Acido ferúlico	<chem>O=C(O)/C=C/c1ccc(O)c(OC)c1</chem>



4	~ 10,25	Cinnamyl	
5	~ 12,80	Pinobanksina	
6	~ 14,21	Quercetina	
7	~ 16,94	Naringenina	
8	~17,4	Apigenina	
9	~ 18,01	Drupanina	
10	~19,66	Isorhamnetina	
11	~ 20,9	Crisina	
12	~ 20,10	CAPE	
13	~ 20,39	Eupalitina	
14	~ 20,70	Pinocembrina	
15	~ 23,19	Galangina	
16	~ 25,78	Acacetina	
17	~ 26,34	Rhamnazina	
18	~ 26,78	Artepillin C	



19	~29,14	Tetochrysin	<chem>COC1=CC=C2C(=C1)OC(=O)C=C2C3=CC=CC=C3</chem>
20	~ 30,72	Baccharina	<chem>CC(=O)C=Cc1ccc(cc1)OC(=O)CCc2ccccc2</chem>

3.4 ANÁLISE POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Para análise por MEV, os dentes (decíduos e permanentes) foram imersos nos respectivos extratos de própolis. Após a remoção destes dentes das soluções dos extratos de própolis foi realizada uma prévia avaliação dos tecidos que revestem os dentes e observou-se que não houve alteração na mudança da coloração das estruturas teciduais da superfície dentária.

As Figuras abaixo 2, 3 e 4 são imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura de cortes de dentes permanentes e decíduos imersos em soluções de extrato de própolis, de clorexidina manipulada à 0,12% e corte de dentes que ficaram em tubos vazios.

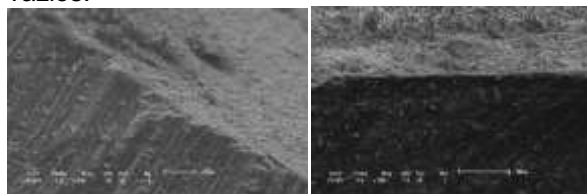


Figura 2: Micrografia de MEV de dentes imersos em amostras de extrato de própolis: (A) Dente permanente com aumento de 500 X e (B) Dente Decíduo com aumento de 350 X.

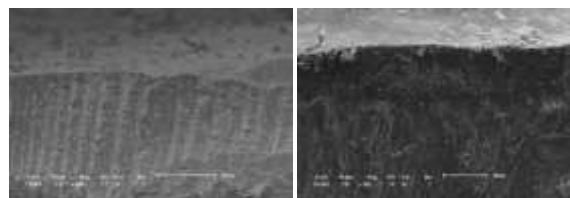


Figura 3: Micrografia de MEV de dentes imersos em clorexidina à 0,12% manipulada: (A) Dente permanente com aumento de 400 X e (B) Dente Decíduo com aumento de 300 X.

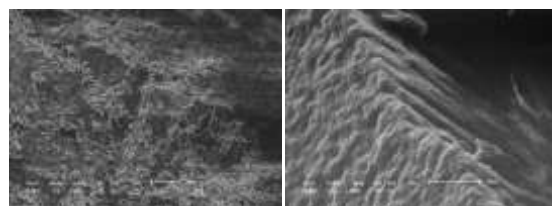


Figura 4: Micrografia de MEV de dentes que não foram imersos em soluções, ficaram em tubos vazios: (A) Dente permanente com aumento de 500 X e (B) Dente Decíduo com aumento de 1800 X.

Observou-se que os dentes que ficaram em soluções como o extrato de própolis e o antisséptico clorexidina à 0,12%, mostraram certa nitidez da imagem em relação aos túbulos dentinários, tanto nos dentes decíduos como nos permanentes, o que não aconteceu com a imagem da figura 3, onde os dentes não foram imersos em soluções, verificando uma superfície bastante rugosa com pouca organização dos túbulos dentinários, demonstrando que as soluções possuem algumas características favoráveis, semelhantes e que atuam de alguma forma na estrutura dos tecidos dentários, o esmalte e a dentina. Através destas informações é possível aplicar o extrato de própolis em enxaguantes bucais.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que as própolis estudadas, apresentam-se como própolis verde por apresentar o Artepillin C como substância majoritária. Nestes extratos de própolis foi identificado a presença de várias substâncias diferentes de ácidos fenólicos e flavonóides que apresentam comprovadamente ação anti-



inflamatória e antisséptica e que por sua vez podem inibir a proliferação bacteriana, relacionando estes própolis com grande potencial para ser usada em solução como enxaguante, que através de sua aplicação pode melhorar o aspecto do esmalte dentário, sendo um agente benéfico em relação aos produtos químicos já utilizados, pois se tratando de um produto natural não acarreta prejuízos aos usuários nem ao meio ambiente, porém são necessários maiores estudos que contribuam com a caracterização e padronização deste material, quanto às características desejadas.

REFERÊNCIAS

BAAKILINI, M. F.; LARA, E. H. G; PANZERI, H. **Adición de própolis em formulaciones de dentífricos. Evaluación de SUS propiedad y estabilidad.** Ver Fola Oral, São Paulo, v.2, n.6, p.130-133, dez.1996.

CHENG, H.; QIN, Z. H.; GUO, X. F.; HU, X. S.; WU, J. H. **Geographical origin identification of própolis using GC-MS and electronic nose combined with principal componente analysis.** Food Research International, v. 51, p. 813 – 822, 2013.

CUNHA, I. B. S.; SAWAYA, A. C. H. F.; CAETANO, F. M.; SHIMIZU, M. T.; MARCUCCI, M. C.; DREZZA, F. T.; POVIA, G. S.; CARVALHO, P.O. **Factors that Influence the Yield and Composition of Brazilian Propolis Extracts.** J. Braz. Chem. Soc., v. 15, p. 964-970, 2004.

LUSTOSA, S.R.; GALINDO, A.B.; NUNES, L.C.C.; RANDAU, K.P.; ROLIM NETO, P.J. **Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia.** Revista brasileira de farmacognosia, vol.18, n.3, p. 447-454, 2008.

MOTA, H. C. N. **Avaliação clínica da própolis sobre a placa bacteriana e gengivite.** 87f. Dissertação (Mestrado em Odontologia Preventiva). Natal: Faculdade de Odontologia da UFRN; 2000.

ZÁRATE-PEREIRA, P. **Avaliação in situ da ação de própolis de Apis mellifera no desenvolvimento da cárie dentária e na formação do biofilme dental.** 116f. Tese de Doutorado. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.