



**EXTRAÇÃO AQUOSA DE PRÓPOLIS E SECAGEM EM
LEITO DE ESPUMA PARA USO EM ALIMENTOS**

DANIELA ALMEIDA PEREIRA

2008

DANIELA ALMEIDA PEREIRA

**EXTRAÇÃO AQUOSA DE PRÓPOLIS E SECAGEM
EM LEITO DE ESPUMA PARA USO EM ALIMENTOS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração em Engenharia de Processos de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Orientador:
Arienilmar Araújo Lopes da Silva

Co-orientador:
Paulo Bonomo

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
2008

641.68 P489e	<p>Pereira, Daniela Almeida.</p> <p>Extração aquosa de própolis e secagem em leito de espuma para uso em alimentos / Daniela Almeida perira. – Itapetinga, BA: UESB, 2008. 87p.</p> <p>Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB - <i>Campus</i> de Itapetinga. Sob a orientação do Prof. DSc. Arienilmar Araújo Lopes da Silva e co-orientação do Prof. DSc. Paulo Bonomo.</p> <p>1. Própolis – Uso em alimentos. 2. Própolis – Extrato aquoso – Secagem. 3. Secagem em leito de espuma. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, <i>Campus</i> de Itapetinga. II. Silva, Arienilmar Araújo Lopes da. II. Bonomo, Paulo. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD (21): 641.68</p>
-----------------	--

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Própolis – Uso em alimentos.
2. Própolis – Extrato aquoso – Secagem.
3. Secagem em leito de espuma.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS



Área de Concentração: Engenharia de Processos de Alimentos

Campus de Itapetinga-BA

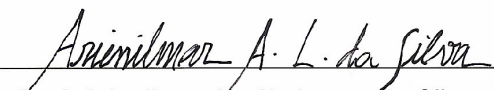
DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “EXTRAÇÃO AQUOSA DE PRÓPOLIS E SECAGEM EM LEITO DE ESPUMA PARA USO EM ALIMENTOS”.

Autor (a): DANIELA ALMEIDA PEREIRA

Orientador (a): Prof. Dr. Arienilmar Araújo Lopes da Silva

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENGENHARIA DE PROCESSOS DE ALIMENTOS, pela Banca Examinadora.


Prof. Arienilmar Araújo Lopes da Silva, DSc., UESB


Prof. Joel Camilo Souza Carneiro, DSc., UESB


Prof. Evandro Sena Freire, DSc., UESC

Data da Realização: 15 de agosto de 2008.

Dedico este trabalho a minha mãe, aos meus irmãos Danilo e Dênisson por sempre acreditarem em mim, e em especial ao meu namorado Napoleão, pelo carinho e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo agradeço a Deus, que em sua enorme generosidade me acumulou de bênçãos, dando-me força mental e física para a realização deste trabalho.

À minha amada mãe, pelo exemplo de dedicação, força, honestidade e principalmente pelo amor e carinho que sempre me foram destinados durante toda a minha existência.

Ao meu esposo Napoleão pela cumplicidade, confiança, carinho, ou simplesmente pela sua existência na minha vida.

Aos meus irmãos Danilo e Dênisson pelo carinho e preocupação que sempre me dedicaram.

Ao Prof. Arienilmar Araújo pela orientação deste trabalho.

À Prof^a Renata Bonomo pela confiança, paciência e ajuda nos momentos difíceis, e pela amizade.

Ao Prof. Paulo Bonomo pela co-orientação.

A Monalisa por sua grande colaboração no experimento.

À Coordenação do Mestrado de Engenharia de Alimentos.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de estudo.

A todos os amigos e colegas que direta ou indiretamente contribuíram para a execução deste trabalho.

RESUMO

PEREIRA, D. A. **Extração aquosa de própolis e secagem em leito de espuma para uso em alimentos**. Itapetinga-BA: UESB, 2008. 87p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia de Alimentos - Engenharia de Processos de Alimentos).*

A própolis é um produto de flavor único e ainda pouco explorado pelas indústrias de alimentos, o que justificou esta pesquisa. Extratos aquosos de própolis não apresentam propriedades medicinais e são adequados para aplicações em alimentos. Também é importante transformar o extrato aquoso de própolis em pó para melhorar sua conservação, transporte e comercialização. Por isso, os objetivos foram: (a) desenvolver um processo de extração aquosa de própolis e testar a aplicação do extrato em alimento; (b) transformar o extrato em pó utilizando a técnica de secagem em leito de espuma. Para a extração, testaram-se dois tipos de própolis: preta e verde e seu efeito sobre o processo. Também foram testados tempos de maceração de 2, 4, 6, e 8 horas a temperaturas de 30, 45, 60 e 75°C. O efeito desses tratamentos foi avaliado sobre: rendimento de extrato seco (RES), teor de sólidos solúveis (TSS), pH, acidez total titulável (ATT) e atividade antioxidante (AA). Selecionou-se o extrato de maior rendimento de extrato seco (RES) e teor de sólidos solúveis (TSS) para ser adicionado a suco de goiaba nas concentrações de 1% e 3%. Avaliou-se o efeito dessas concentrações sobre a nota de aceitação. Para a secagem em leito de espuma, testaram-se formulações com os aditivos: emustab (E), super-liga-neutra (SLN), gelatina (G) e goma Carragena (C). Testou-se o efeito dessas formulações sobre a densidade da espuma e o rendimento de pó. A formulação selecionada foi testada nas concentrações de 0, 1, 2, 3, 4 e 5% e o efeito dessas concentrações foi avaliado sobre a densidade, a estabilidade e a cinética de secagem das espumas. O produto seco foi avaliado em sua umidade, atividade de água, índice de solubilidade em água e teor de aditivos. Como resultados: o processo de extração foi eficiente apenas para a própolis verde. A 75°C por 8 h, obteve-se o melhor extrato aquoso de própolis, com sabor, cor e odor característicos. Ele apresentou RES de 3,2%, AA de 56 s, pH de 4,7, ATT de 4,3% e TSS de 4,4°Brix. A adição de apenas 1% desse extrato foi suficiente para reduzir a aceitação do suco. Para a secagem, a formulação selecionada foi a emustab e super-liga-neutra (E-SLN), pois apresentou densidade de 0,49 g/cm³ e o maior rendimento de moagem, 91,6%. Conforme os modelos matemáticos obtidos, a concentração de 2,2% de E-SLN minimizou a densidade em 0,35 g/cm³ e a concentração de 4,5% de E-SLN maximizou a estabilidade da espuma em 100%. A concentração de 1% foi a única que coalesceu durante a secagem. As demais secaram e, considerando a razão de umidade, não ocorreu variação significativa entre a cinética de secagem delas, que foi melhor descrita pelo modelo de Midilli e Kucuk. O extrato em pó apresentou médias de 8,1 % de umidade, 59,2 % de solubilidade em água, atividade de água (Aw) de 0,56 e teor de aditivos de 42%.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, *Psidium guajava*, própolis, extrato aquoso, densidade, estabilidade, cinética de secagem.

* Orientador: Arienilmar Araújo Lopes da Silva, DSc., UESB e Co-orientador: Paulo Bonomo, DSc., UESB.

ABSTRACT

PEREIRA, D.A. **Foam mat drying of propolis aqueous extraction.** Itapetinga-BA: UESB, 2008. 87p. (Dissertation – Food Engineering Master Degree – Food Processing Engineering).*

The propolis is a product of only flavor and still little explored by the industries of foods, what justified this research. Aqueous extracts of propolis don't present medicinal properties and they are appropriate for applications in foods. It is also important to transform the aqueous extract in powder to improve its conservation, transport and commercialization. Therefore, the objectives were: (a) to develop a process of aqueous extraction of propolis and to test the application of the extract in food; (b) to transform the extract in powder using the foam-mat drying technique. For the extraction, two propolis types were tested: black and green and its effect on the process. They were also tested times of maceration of 2, 4, 6, and 8 hours at temperatures of 30, 45, 60 and 75°C. The effect of those treatments was evaluated on: dry extract yield (DEY), soluble solid content (SSC), pH, total titratable acidity (TTA) and antioxidant activity (AA). The extract containing the highest DEY and SSC was selected to be added to guava juice at the concentrations of 1% and 3%. The effect of these concentrations was evaluated on the acceptance note. For the foam-mat drying, formulations were tested among foaming additives: Emustab (E), Super-League-Neutral (SLN), Gelatin (G) and Carrageenan gum (C). The effect of these formulations was tested on the density of the foam and the powder income. The selected formulation was tested in the concentrations of 0, 1, 2, 3, 4 and 5% and the effect of these concentrations was evaluated on the density, the stability and the drying kinetics of the foams. The dry product was evaluated in its moisture content, water activity, water solubility index and additive content. As results: the extraction process was efficient just for the green propolis. To 75°C for 8 h, it was obtained the best aqueous extract of propolis, with flavor, color and characteristic odor. It presented DEY of 3.2%, AA of 56 s, pH of 4.7, TTA of 4.3% and SSC of 4.4°Brix. The addition of only 1% of that extract was enough to reduce the acceptance of the guava juice. For the drying, the selected formulation was the E-SLN, because it presented density of 0.49 g/cm³ and the largest grinding income, 91,6%. According to the obtained mathematical models, the concentration of 2.2% of E-SLN minimized the density in 0.35 g/cm³ and the concentration of 4.5% maximized the stability of the foam in 100%. The concentration of 1% was the only that coalesced during the drying. The others dried and, considering the moisture ratio, no significative variance occurred among its drying kinetic, that was better described by Midilli and Kucuk model. The powder extract presented averages of 8.1 % of moisture, 59.2 % of water solubility, A_w of 0.56, and 42 % of additives content.

Keywords: *Apis mellifera*, *Psidium guajava*, density, stability, kinetic.

* Advisor: Arienilmar Araújo Lopes da Silva, DSc., UESB and Co-advisor: Paulo Bonomo, DSc., UESB

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Modelos do efeito da temperatura, x , e do tempo, y , sobre os parâmetros, z , de qualidade físico-química do extrato aquoso de própolis.	36
Tabela 2. Aceitabilidade de suco de goiaba com 1 e 3% de extrato de própolis.	41
Tabela 3. Modelos de secagem em camada fina.	51
Tabela 4. Formulações (% p/p) para a formação de espuma de própolis.....	53
Tabela 5. Características do extrato aquoso de própolis.	58
Tabela 6. Efeito da combinação de aditivos sobre a densidade, D , da espuma úmida e sobre o rendimento, R , de pó *.	59
Tabela 7. Parâmetros dos modelos da secagem de espuma de própolis.....	64
Tabela 8. Parâmetros físico-químicos de extrato aquoso de própolis em pó.	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Processo de produção de extrato aquoso de própolis.	30
Figura 2. Aspecto da própolis moída até 5 mesh e macerada.	31
Figura 3. Ficha utilizada para avaliação do suco de goiaba com extrato de própolis.	33
Figura 4. Rendimentos após moagem das própolis preta e verde.	35
Figura 5. Rendimento de extrato seco em função do tempo e da temperatura de maceração.	37
Figura 6. Atividade antioxidativa do extrato aquoso de própolis em função do tempo e da temperatura de maceração.	38
Figura 7. pH do extrato aquoso de própolis em função do tempo e da temperatura de maceração.	39
Figura 8. Acidez total titulável do extrato aquoso de própolis em função do tempo e da temperatura de maceração.	40
Figura 9. Teor de sólidos solúveis do extrato aquoso de própolis em função do tempo e da temperatura de maceração.	41
Figura 10. Análise de frequência das notas de aceitação para suco de goiaba contendo 0, 1 e 3% de extrato aquoso de própolis.	42
Figura 11. Foto do extrato aquoso (A) e foto dos sucos com 0% (B) e 3% de extrato (C).	42
Figura 12. Curvas de secagem.	50
Figura 13. Espuma do extrato de própolis em bandeja de alumínio dentro do secador.	55
Figura 14. Efeito da % de E-SLN sobre a densidade da espuma de extrato de própolis.	60
Figura 15. Efeito da % de E-SLN sobre a estabilidade da espuma a 55°C.	61
Figura 16. Cinética de secagem de espumas de própolis com diferentes % de E-SLN, a 55°C.	62
Figura 17. Curva média da taxa de secagem das espumas de própolis.	62
Figura 18. Variação da razão de umidade com o tempo de secagem das espumas de própolis com diferentes concentrações de E-SLN.	63
Figura 19. Variação, experimental e predita, da razão de umidade média com o tempo de secagem da espuma de própolis a 55°C.	64
Figura 20. Aspecto visual da matéria-prima extrato aquoso de própolis e do produto de seco.	65

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA	Atividade antioxidante
AlCl ₃	Cloreto de alumínio
A/O	Água em óleo
ATT	Acidez total titulável
C	Carragena
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCDAE	Camada delgada de alta eficiência
CG	Cromatografia gasosa
CG-MS	Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DPPH	1-difenil-2-picrilhidrazil
E	Emustab
E-C	Emustab e carragena
EEP	Extrato etanólico da própolis
E-SLN	Emustab e super-liga-neutra
G	Gelatina
ISA	Índice de solubilidade em água
MP	Material peneirado
MR	Moiture Ratio
O/A	Óleo em água
pH	Potencial hidrogeniônico
RES	Rendimento de extrato seco
RU	Razão de umidade
SLN	Super-Liga-Neutra
TSS	Teor de sólidos solúveis
U _i	Umidade inicial
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	13
CAPÍTULO 1 - EXTRAÇÃO AQUOSA DE PRÓPOLIS E USO EM SUCO DE GOIABA	14
RESUMO	15
ABSTRACT.....	16
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 A própolis e sua importância	19
2.2 Composição química da própolis.....	20
2.3 Métodos de análise de extratos de própolis.....	25
2.4 Métodos de extração e propriedades de extratos de própolis	26
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 Objetivo geral	29
3.2 Objetivos específicos	29
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Tipos da matéria-prima.....	30
4.2 Processo de extração	30
4.3 Análises físico-químicas.....	31
4.4 Análise sensorial.....	33
4.5 Planejamento experimental e análise estatística	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Tipo adequado de matéria-prima	35
5.2 Efeitos da temperatura e do tempo de maceração	35
5.3 Efeito sensorial do extrato aquoso de própolis em suco de goiaba	41
6 CONCLUSÕES	43
CAPÍTULO 2 - SECAGEM DE EXTRATO AQUOSO DE PRÓPOLIS EM LEITO DE ESPUMA	44
RESUMO	45
ABSTRACT.....	46
1 INTRODUÇÃO.....	47
2 REVISÃO DE LITERATURA	48
2.1 Espumas alimentícias e emulsões.....	48
2.2 Secagem em leite de espuma	48
2.3 Cinética de secagem de espumas - modelagem matemática e parâmetros	49
3 OBJETIVOS.....	52
3.1 Objetivo geral	52
3.2 Objetivos específicos	52
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
4.1 Local de realização do experimento	53
4.2 Caracterização da matéria-prima	53
4.3 Seleção de uma formulação de aditivos.....	53
4.4 Efeito da concentração de aditivos sobre a qualidade da espuma.....	54
4.5 Efeito da concentração de aditivos sobre a cinética de secagem.....	55
4.6 Avaliação físico-química do produto seco.....	56
4.7 Planejamento experimental e análise estatística	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1 Caracterização da matéria-prima	58
5.2 Seleção da formulação de espumantes	58

5.3 Efeito da concentração de aditivos na densidade da espuma.....	59
5.4 Efeito da concentração de aditivos sobre a estabilidade da espuma	60
5.5 Efeito da concentração de aditivos na secagem da espuma.....	61
5.6 Avaliação físico-química do produto seco.....	65
6 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS.....	68
APÊNDICES.....	77
APÊNDICE A - Análises de resíduo.....	78
APÊNDICE B - Análises de regressão.	82
ANEXO	84
ANEXO A - Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis.....	85

INTRODUÇÃO GERAL

As indústrias de alimentos freqüentemente utilizam o mel apícola na formulação de diversos produtos. É comum encontrar-se em supermercados produtos como biscoitos, bolos, pães, balas, iogurtes, entre outros, apresentando o mel como ingrediente de destaque no rótulo da embalagem. Outros produtos apícolas como o pólen e a própolis raramente são utilizados. Existem no mercado poucos produtos alimentícios contendo própolis, como balas de própolis que podem ser encontradas em algumas farmácias ou estabelecimentos de produtos apícolas, iogurte de mel e própolis.

A apicultura é uma atividade econômica rural e geralmente familiar, porque não requer grandes investimentos e terras para sua exploração. Por isso ela está presente em um grande número de municípios da zona rural brasileira e a utilização alimentícia de outros produtos apícolas além do mel teria impacto na cadeia produtiva apícola e conseqüente impacto social. O problema é que são escassas as informações científicas para o uso alimentício de tais produtos.

A extração de substâncias pode ser feita de diferentes maneiras, a qual envolve normalmente uma extração simples, onde a amostra é deixada em contato com o solvente a frio por um tempo determinado, com ou sem agitação, ou por uma extração exaustiva, que utiliza um aparelho com solvente aquecido, passando continuamente através da amostra (JEFFERY *et al.*, 1992).

Justifica-se fazer esse estudo devido à própolis ser um produto apícola pouco explorada pelas indústrias de alimentos. Para propiciar a exploração, é preciso estabelecer um método barato de extração sem álcool e testar a aplicação sensorial. Além disso, é preciso desenvolver novos produtos e agregar valores aos produtos da exploração apícola. O extrato aquoso de própolis apresenta o flavor, mas não apresenta efeito medicinal nem teor alcoólico, por isso pode ser utilizado pelas indústrias de alimentos. A conversão desse extrato em pó facilitará a conservação, o transporte, a comercialização e a aplicação em formulações alimentícias.

CAPÍTULO 1

EXTRAÇÃO AQUOSA DE PRÓPOLIS E USO EM SUCO DE GOIABA

RESUMO

PEREIRA, D. A. **Extração aquosa de própolis e uso em suco de goiaba**. Itapetinga-BA: UESB, 2008. (Dissertação - Mestrado em Engenharia de Alimentos - Engenharia de Processos de Alimentos).*

A própolis é um produto de flavor único. Objetivou-se obter um extrato de própolis adequado para aplicações em alimentos. Propôs-se um processo de extração aquosa. Testou-se própolis preta e verde. Em tempos de maceração de 2, 4, 6, e 8 horas a temperaturas de 30, 45, 60 e 75°C. Foram analisados: rendimento de extrato seco (RES), teor de sólidos solúveis (TSS), pH, acidez total titulável (ATT) e atividade antioxidante (AA). Para análise sensorial em suco de goiaba, selecionou-se o extrato de maior RES e TSS, adicionado a 0%, 1% e 3%. O processo foi eficiente apenas para a própolis verde. A 75°C por 8 h, foi produzido extrato não medicinal, com sabor, cor e odor característicos e apresentou RES de 3,2%, AA de 56 s, pH de 4,7, ATT de 4,3% e TSS de 4,4°Brix. Esses valores permitem uma utilização normal do extrato como ingrediente alimentício. A adição de apenas 1% desse extrato foi suficiente para reduzir a aceitação do suco.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, *Psidium guajava*, atividade antioxidante, aceitação.

* Orientador: Arienilmar Araújo Lopes da Silva, *DSc.*, UESB e Co-orientador: Paulo Bonomo, *DSc.*, UESB.

ABSTRACT

PEREIRA, D.A. **Use in guava juice of própolis aqueous extract.** Itapetinga-BA: UESB, 2008. (Dissertation – Food Engineering Master Degree – Food Processing Engineering).*

The propolis is a product with a unique flavor. This research's objective was to obtain a propolis extract adequate to applications on foods. It was proposed a water extraction process. Black and green propolises were tested and the maceration times 2, 4, 6 and 8 h were tested at the temperatures of 30, 45, 60 and 75°C. The extracts were analyzed to: yield of dry extract (YDE), total soluble solids (TSS), pH, total titratable acidity (TTA) and anti-oxidant activity (AA). The process was efficient for the green propolis only. At 75°C and 8 h, it presented 3.2 % of YDE, 56 s of AA, 4.7 of pH, 4.3% of TTA and 4.4°Brix of TSS. These values permit a normal utilization of the extract as food ingredient. For sensorial analysis with guava juice, it was selected the greatest YDE and TSS extract, added at 0%, 1% and 3%. Just 1% of extract was enough to reduce the acceptance from "like moderately" to "neutral".

Keywords: *Apis mellifera*; *Psidium guajava*; antioxidant activity; acceptance.

* Advisor: Arienilmar Araújo Lopes da Silva, *DSc.*, UESB and Co-advisor: Paulo Bonomo, *DSc.*, UESB

1 INTRODUÇÃO

A própolis tem ganhado popularidade como alimento saudável em várias partes do mundo, incluindo Estados Unidos, Japão e União Européia, onde é reconhecida como um produto que melhora a saúde humana e previne doenças tais como: inflamação, doenças do coração, diabetes e até mesmo câncer. Várias atividades biológicas como propriedades anticâncer, antioxidante, antiinflamatório, anti-séptico, antimicótico, bacteriostático, adstringente, espasmolítico e anestésico têm sido atribuídas às própolis e seus constituintes (MARCUCCI, 1995; BURDOCK, 1998; BANSKOTA *et al.*, 2001). Devido a esses efeitos benéficos, existe um interesse na composição e atividades biológicas da própolis.

Na Europa a própolis é considerada como um produto medicinal e em outros países como Japão e Estados Unidos, é considerada como aditivo alimentar de baixa restrição (BANKOVA *et al.*, 2000; BURDOCK, 1998; GREENAWAY *et al.*, 1991; MARCUCCI, 1995).

Para se utilizar a própolis na formulação de produtos alimentícios, ela deverá atender a uma série de requisitos. Deverá estar na forma de extrato, ou seja, livre dos componentes dela que não são solúveis em água ou não sejam digeríveis como as ceras, por exemplo. Este extrato não poderá ser rico em álcool como ocorre nos extratos destinados à indústria farmacêutica porque o sabor, o cheiro e, principalmente, as propriedades químicas do álcool são incompatíveis com a qualidade da grande maioria dos alimentos. Não poderá conter substâncias em dosagem e em espécie que possam ter efeito medicinal, terapêutico, funcional ou tóxico ao consumidor. Este extrato não poderá conter contaminantes externos, decorrentes de falta de higiene e de boas práticas de fabricação como cabelos, sujidades, coliformes fecais e microorganismos em atividade. Por fim, este extrato deverá ter custo de produção pequeno o bastante para viabilizar sua exploração econômica pelas indústrias de alimentos.

O extrato aquoso de própolis apresenta-se como uma promissora opção capaz de atender a todos os requisitos. Muitas empresas do ramo de produtos apícolas, principalmente as japonesas, desenvolveram técnicas de extração aquosa e comercializam extratos aquosos, mas há poucas pesquisas publicadas sobre estas técnicas que são mantidas em segredo ou patenteadas. Tais pesquisas mostram que a maioria das técnicas de extração aquosa não extraem as substâncias biologicamente ativas, exceto os antioxidantes, mas sempre em dose não efetiva para uso farmacêutico. O problema é que tais pesquisas tinham como alvo o mercado de produtos farmacêuticos e não se tem dados sobre o potencial e adequação dos extratos aquosos para conferir sabor e odor a alimentos sem riscos ao consumidor.

Assim, o objetivo desse trabalho é desenvolver uma técnica de extração aquosa de própolis para ser utilizado em alimentos e cujo extrato seja obtido em concentração capaz de atribuir sabor em formulação de produtos alimentícios, sendo utilizado como ingrediente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A própolis e sua importância

A própolis é conhecida e utilizada pelo homem desde os tempos mais remotos. O emprego dela já era descrito pelos assírios, gregos, romanos, incas e egípcios. No primeiro texto médico conhecido por "Livro de produção de Medicamentos para todas as partes do Corpo Humano", narrado no papiro de Ebers e escrito há cerca de 1.700 a.C., faz-se menção à própolis como produto medicinal (APICULTURA, 2007). No antigo Egito era utilizada como um dos materiais para embalsamar os mortos ("cera negra") (PEREIRA *et al.*, 2002).

Em 1908 surgiu o primeiro trabalho científico sobre as propriedades químicas e "composição", indexado no *Chemical Abstracts* (referência nº 192). Em 1968 surgiu no *Chemical Abstracts* o resumo da primeira patente utilizando a própolis Romena, para a produção de loções para banho (PEREIRA *et al.*, 2002).

A descoberta de que certos alimentos podem prevenir doenças iniciou uma revolução nas áreas de nutrição, farmácia, medicina e ciência de alimentos. Além dos nutrientes, sabe-se hoje que existem outras substâncias nos alimentos que têm funções específicas e importantes para a saúde. Recentemente a própolis passou a ser utilizada como um constituinte de alimentos saudáveis e como alimento funcional (AYALA *et al.*, 1985; BANKOVA *et al.*, 1983; BURDOCK, 1998; DOBROWOLSKI *et al.*, 1991; ESSER, 1986; GHISALBERTI, 1979; HAUSEN *et al.*, 1987). Elas são chamadas de "substâncias bioativas" e os alimentos que as contêm são denominados de "alimentos funcionais" (MANN *et al.*, 1994).

A própolis tem ganhado popularidade como alimento saudável em várias partes do mundo, incluindo Estados Unidos, Japão e União Européia, onde é reconhecida como um produto que melhora a saúde humana e previne doenças tais como: inflamação, doenças do coração, diabetes e até mesmo câncer. Várias atividades biológicas como propriedades anticâncer, antioxidante, antiinflamatório, anti-séptico, antimicótico, bacteriostático, adstringente, espasmolítico e anestésico tem sido atribuídas às própolis e seus constituintes (MARCUCCI, 1995; BURDOCK, 1998; BANSKOTA *et al.*, 2001).

Devido a esse efeito benéfico, existe um renovado interesse na composição e atividades biológicas da própolis. A própolis tem se destacado tanto pelas diversas propriedades terapêuticas tais como atividade antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante, anestésica (GHISALBERTI *et al.*, 1979), anticariogênica (KOO *et al.*, 2000) antitumoral (FRENKEL *et al.*, 1993), citotóxica (BANSKOTA *et al.*, 2000) e antiviral (VYNOGRAD *et al.*, 2000); como

pela aplicabilidade nas indústrias de alimentos e cosméticos, sendo ingrediente em formulações de balas, chocolates, pasta de dente, xampus, creme para pele, entre outras (MATSUDA, 1994).

Própolis é o nome genérico para a substância resinosa de composição complexa coletada pelas abelhas a partir dos mais heterogêneos tipos de plantas. A palavra própolis é derivada do grego sendo que *pro* significa “em defesa de” e *polis* “cidade”, isto é, em defesa da cidade ou da colméia (MARCUCCI, 1996; BURDOCK, 1998). As abelhas de fato usam esta substância para protegê-las contra insetos e microorganismos, empregando-a no reparo de frestas ou danos à colméia (isolamento térmico e contra inimigos), no preparo de locais assépticos para a postura da abelha rainha e na mumificação de insetos invasores. Costuma-se encontrar na colméia pequenos animais ou parte deles envoltos em própolis, em perfeito estado de conservação (MARCUCCI, 1996), já que à própolis é também atribuída ação antimicrobiana, o que impede a decomposição do cadáver (PARK *et al.*, 1998).

A coloração da própolis é dependente de sua procedência, pode variar do marrom escuro passando a uma tonalidade esverdeada até o marrom avermelhado, dependendo do tipo e idade. Apresenta um odor característico que pode variar de uma amostra para outra. O ponto de fusão é variável entre 60 e 70 °C, sendo que pode atingir, em alguns casos, até 100 °C (MARCUCCI, 1996). É uma substância rígida, mas quebradiça quando fria e que se torna dúctil e maleável quando aquecida. Sua remoção da pele humana é difícil, pois parece interagir fortemente com óleos e proteína da pele (BURDOCK, 1998). A própolis é coletada por abelhas a partir de diversas partes das plantas como brotos, botões florais, casca e exsudatos resinosos. Durante a coleta, as abelhas misturam a cera e a própolis coletada juntamente com a enzima 13 – glicosidase presente em sua saliva, acarretando a hidrólise dos flavonóides glicosilados até suas respectivas agliconas (PARK *et al.*, 1997).

2.2 Composição química da própolis

A composição exata da própolis pura varia com seu tipo. Em geral é composta por 50% de resina e bálsamo vegetal, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de outras substâncias variadas, incluindo restos orgânicos. É considerada uma das misturas mais heterogêneas encontradas em fontes naturais; hoje mais de 300 constituintes já foram identificados e/ou caracterizados em diferentes amostras de própolis. O maior grupo de compostos isolados da própolis são os flavonóides, encontrados em todas as partes do reino vegetal, os quais junto com os ácidos carboxílicos modificados são componentes estratégicos na própolis, pois são responsáveis pela bioatividade contra vários microorganismos patogênicos (BURDOCK, 1998).

Os materiais disponíveis para as abelhas coletarem a própolis são produzidos por uma enorme variedade de processos botânicos em diferentes partes de plantas. Podem ser substâncias ativamente secretadas e substâncias encontradas no exsudato de cortes das plantas, materiais lipofílicos das folhas e dos brotos foliares, mucilagens, gomas, resinas e látex (BANKOVA *et al.*, 2000). Além disso, podem ser encontrados na própolis materiais que são introduzidos durante a elaboração dela na colméia (MARCUCCI, 1995).

As propriedades biológicas da própolis estão diretamente ligadas à composição química, e esta possivelmente é o maior problema para o uso da própolis em fitoterapia, tendo em vista que a composição química varia com a flora da região, partes da planta (brotos, cascas, galhos, exsudatos e menos importante, botões florais) e época da colheita, com a técnica empregada, assim como com a espécie da abelha (no caso brasileiro também o grau de "africanização" da *Apis mellifera* pode influenciar a composição dela). Este conjunto exerce uma enorme importância nas propriedades físicas, químicas e biológicas. Várias literaturas mostram a similaridade ou relacionam algumas substâncias naturais das plantas aos componentes encontrados na própolis. Somente no caso do Brasil são descritas propriedades biológicas e composição química distintas para diferentes amostras coletadas em diferentes partes do país. Essa variação é facilmente explicada pela grande biodiversidade brasileira, assim como, até certo ponto, a habilidade bioquímica das abelhas em alterar a composição nativa ou adicionar componentes próprios à própolis (PEREIRA *et al.*, 2002).

Uma menor variação da composição química da própolis é observada nas regiões temperadas do planeta, como, por exemplo, na Europa, onde seus principais compostos bioativos são os flavonóides (flavonas, flavonóis e flavanonas). A principal fonte botânica das zonas temperadas é exsudato de broto de espécies de *Populus* (poplar) e seus híbridos (GREENAWAY *et al.*, 1990; BANKOVA *et al.*, 1995; HEGAZI *et al.*, 2000; BANKOVA *et al.*, 2000; PEREIRA *et al.*, 2002). Isso é verdade para a Europa, América do Norte e regiões não tropicais da Ásia e até na Nova Zelândia onde espécies introduzidas de álamo são fontes botânicas para as abelhas (BANKOVA *et al.*, 2000).

Há grande controvérsia em relação ao teor de flavonóides nas amostras brasileiras (PEREIRA *et al.*, 2002). Bankova *et al.* (1995) concluíram que as própolis brasileiras têm uma baixa concentração de flavonóides e ésteres de ácidos fenólicos, evidenciando altas concentrações de ácido dihidroxicinâmico, acetofenonas preniladas e alguns terpenóides específicos. Ainda Bankova *et al.* (2000) cita que em alguns casos os flavonóides são importantes componentes presentes na própolis brasileira. Alguns autores sugerem que as fontes prováveis para a própolis brasileira podem ser principalmente *Baccharis* spp. (BANSKOTA *et al.*, 1998) e *Araucaria* sp. (BANKOVA *et al.*, 1998; BANSKOTA *et al.*, 1998), mas nenhuma comparação direta entre a própolis e a fonte botânica foi realizada (BANKOVA *et al.*, 2000).

Aga *et al.* (1994) determinaram os compostos prenilados como os maiores constituintes da própolis brasileira e relatam que a atividade antibacteriana destes compostos pode tornar-se maior com o aumento do número de resíduos prenil na molécula, como citado por Marcucci *et al.* (2001).

Além disso, Velikova *et al.* (2000) demonstraram que nem a espécie da abelha nem a localização geográfica determinam a composição química de própolis produzidas por Meliponíneos e a escolha da fonte botânica, respectivamente. O que pode ser explicado pelo fato de as Meliponíneos coletarem material botânico em distâncias curtas (máximo 50 metros) e assim usarem como fonte de própolis o primeiro exsudato de planta que encontram durante o vôo (VELIKOVA *et al.*, 2000).

Nas zonas temperadas do hemisfério norte, as abelhas coletam a própolis apenas no verão (incluindo final da primavera e começo do outono - cerca de quatro meses) e por isso as variações sazonais na composição da própolis são insignificantes. No Brasil, entretanto, a coleta de própolis dá-se durante todo o ano, deste modo existe uma variação sazonal na composição. A diminuição em alguns componentes biologicamente ativos como os fenólicos são acompanhados pelo aumento de outros, por exemplo, ácidos diterpênicos. Desta forma, pode-se esperar que algumas atividades biológicas, relacionadas a estes compostos, (antibacteriana, antifúngica) sejam similares em diferentes estações do ano (BANKOVA *et al.*, 1998). Isto foi comprovado por Sforcin *et al.* (2000) que demonstraram não existir diferença estatisticamente significativa na atividade antimicrobiana da própolis coletada nas quatro estações do ano frente às cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A subespécie da abelha também tem determinada influência na composição quantitativa da própolis, porém o critério de escolha da fonte botânica pelas abelhas permanece incerto (BANKOVA *et al.*, 1998).

A atividade antioxidante (capacidade ou potencial antioxidante) é um parâmetro utilizado vastamente (em conjunto com outros) para caracterizar diferentes materiais biológicos. Esta atividade está relacionada com compostos capazes de proteger um sistema biológico contra os efeitos danosos de processos ou reações que causam oxidação excessiva, envolvendo espécies reativas de oxigênio (ARNAO, 2000).

Durante a medida da atividade antioxidante dois fatores devem ser levados em consideração. O primeiro é que a eficiência do sequestro do radical é determinada não apenas pela reatividade do antioxidante contra o radical, mas também pela concentração. O segundo fator está relacionado com o espectro de ação do antioxidante por sua vez modulado pela solubilidade (aquoso ou organossolvente), por exemplo, a vitamina C (ácido ascórbico) é um potente sequestrador de radicais hidrofílicos, mas não de radicais lipofílicos (NIKI, 2002).

No entanto, existem poucos estudos avaliando as atividades antioxidantes das própolis de diferentes origens geográficas. Yamauchi *et al.* (1992) compararam as própolis do Japão,

China, Brasil e Estados Unidos contra a inibição da auto-oxidação do metil linoelato e o benzil cafeato isolado, compostos antioxidantes das própolis coletadas na China. Banskota *et al.* (2000) relataram que extratos aquosos de própolis do Brasil e China evidenciam atividade sequestradora de radicais livres contra o 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) maior que o correspondente extrato metanólico, enquanto extratos metanólicos de própolis da Suécia e Peru exibiram forte atividade sequestradora de radicais livres contra o DPPH. Moreno *et al.* (2000) mostraram que as própolis da Argentina possuem atividade sequestradora contra DPPH o que justifica seu uso como uma fonte natural de antioxidantes. Estudos realizados por Park *et al.* (2000) mostraram que todos os grupos de própolis analisados apresentam atividade antioxidante acima de 80%, exceto o Grupo 10 (Ceará) que apresentou atividade menor que 80% e o Grupo 9 (Pernambuco) que não apresentou atividade antioxidante. Todos eles analisados pelo método da oxidação acoplada do β -caroteno e do ácido linoléico.

De acordo com a literatura, a atividade antioxidante dos extratos etanólicos e aquoso de própolis são conferidos aos flavonóides (HAMMERSCHMIDT *et al.*, 1978; PRATT *et al.*, 1979; PRATT, 1964).

Uma das principais propriedades físico-químicas atribuída a própolis traduz-se pela capacidade antioxidante, varredora de radicais livres e que é responsável por uma série de efeitos benéficos a ela atribuída do ponto de vista farmacológico (MERINO *et al.*, 1996; BANSKOTA *et al.*, 2000; PAULINO *et al.*, 2001; BANSKOTA *et al.*, 2001).

Os tipos de compostos aromáticos e terpênicos encontrados na própolis têm uma importância biológica que permite a determinação das espécies vegetais visitadas pelas abelhas (MARCUCCI, 1996).

A composição heterogênea da própolis engloba grupos químicos (WALKER; CRANE, 1987; GREENAWAY *et al.*, 1990; MARCUCCI, 1995; FONTANA *et al.*, 2000; BANKOVA *et al.* 2000; PEREIRA *et al.*, 2002):

- a) Hidrocarbonetos superiores (penta-, hexa-, nonacosanohexanos);
- b) Álcoois (cinâmicos, fenílico, prenílico, isobutenol, benzílico);
- c) Ácidos alifáticos (acético, angélico, butírico, fumárico, isobutírico, metilbutírico) e ésteres derivados (acetatos de isobutila, isopentila e isopentelina);
- d) Ácidos aromáticos (benzóico, cafeico, cinâmico, cumáricos (-o, -m, -p, ferúlico, gálico, salicílico, 3-4-dimetoxicinâmico, gentísico, hidroxicinâmico, isoferúlico, vanílico) e ésteres aromáticos derivados (acetato de benzila, benzoato de benzila, cafeato de benzila, cumarato de benzila, cafeato de fenil etila, ferulato de prenila, salicilato de benzila, cafeato de butenila, cafeato de butila, cafeato de cinamila, cafeato de butila, benzoato de etila, benzoato de metila, salicilato de metila; ésteres do ácido cafeico com álcoois graxos de cadeia longa - dodecanol, tetradecanol, tetradecenol, hexadecanol);

- e) Ácidos graxos superiores típicos de ceras (araquídico, behênico, cerótico, lignocérico) e usuais (palmítico, oleico, láurico, mirístico) e seus ésteres (hexacosilhexadecanoato);
- f) Aldeídos (benzaldeído, aldeído capróico, vanilina, isovanilina, phidroxibenzaldeído);
- g) Cetonas (acetofenona e seus derivados);
- h) Flavonas e flavonóis (acacetina, apigenina, apigenina-7-metil éster, crisina, galangina, galangina-3-metil éster, quercetina, canferol, tectocrisina, canferid; 3, 7, 4', 5'tetrametil éter da quercetina);
- i) Flavanonas (naringenina, pinobanksina, pinobanksina-3-acetato, pinobanksina-3-butilato, pinobanksina-3-metil éter, pinocembrina, pinostrobina);
- j) Chalconas e diidrochalconas (de alpinetina, naringenina, pinobanksina, pinobanksina-3-acetato, pinocembrina, pinostrobina);
- k) Terpenóides (farnesol, geraniol, cimeno, limoneno, estireno, naftaleno, β - bisabolol, 1,8-cineol, derivados de clerodane, derivados do labdane, β -amirin, sesquiterpenóides, ledol, spatulenol, germacren);
- l) Esteróides (acetatos de estigmasterol e calinasterol);
- m) Aminoácidos (alanina, β -alanina, ácido α -aminobutírico, ácido- δ -aminobutírico, arginina, asparagina, ácido aspártico, cistina, cisteína, ácido glutâmico, glicina, histidina, hidroxiprolina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, ácido piroglutâmico, sarcosina, triptofano, valina, serina, treonina, tirosina);
- n) Açúcares (d-ribofuranose, d-frutose, d-glucitol, d-glucose, talose, sacarose e xilitol, xilose, galactose, manose, ácido galacturônico, lactose, maltose, melibiose, eritritol, inositol);
- o) Lignanais (sesamina, aschantina, sesartenina, dihidrobenzofuran);
- p) Vitaminas (A, B1, B2, B6, C e E);
- q) Minerais (sódio, potássio, magnésio, bário, estrôncio, cádmio, chumbo, cobre, manganês, ferro, cálcio, vanádio, silício, alumínio, níquel, zinco, cromo, titânio, prata, molibdênio, cobalto).

Diferentes autores (MARCUCCI *et al.*, 1998; GARCIA-VIGUERA *et al.*, 1993; NAGY *et al.*, 1986; BOUDOROVA-KRAVSTOVA *et al.*, 1997; MARCUCCI *et al.*, 2000) observaram (até 2000) que a composição química da própolis de regiões de zona temperada, tais como Europa, Ásia e América do Norte, é diferente das zonas tropicais, especialmente o Brasil. A própolis das zonas temperadas é coletada pelas abelhas nas diferentes espécies vegetais de *Populus*, e a composição não varia muito entre elas. Estes autores usaram métodos cromatográficos e espectrométricos para isolar e identificar esses compostos. Uma boa parte destes trabalhos envolve a própolis brasileira, principalmente das regiões Sudeste e Sul. Na própolis coletada dos *Populus* da Europa foram observados em sua composição, em maior frequência, vários flavonóides, ácido cafeico e ésteres deste ácido.

2.3 Métodos de análise de extratos de própolis

Diferentes técnicas têm sido propostas para a separação e identificação dos compostos da própolis. Alguns exemplos podem ser citados, com estudos incluindo desde a cromatografia em camada delgada (CCD) (ARVOUET-GRAND *et al.*, 1994), até as técnicas mais sofisticadas, tais como, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (MARKHAM *et al.*, 1996; GARCIA-VIGUERA *et al.*, 1993), cromatografia gasosa (CG) (BANKOVA *et al.*, 1992), espectrometria de absorção atômica (KULEVANOVA *et al.*, 1995), assim como, combinações entre elas, cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG-MS) (PEREIRA *et al.*, 2000; NAGY *et al.*, 1986), camada delgada de alta eficiência (CCDAE) e ultravioleta-visível (Uv-vísivel) (PARK; KOO, 1997). As técnicas de CLAE e CG-MS são as mais precisas e exatas para elucidar a composição química da própolis.

Contudo, nas análises corriqueiras de controle de qualidade, os flavonóides totais expressos em quercetina têm sido usualmente identificados por espectrofotometria no UV através da reação com o cloreto de alumínio. Esta técnica para a identificação de flavonóides totais em própolis (MARCUCCI *et al.*, 1998; WOISKY; SALATINO, 1998) foi adaptada das análises de flavonóides em plantas, onde normalmente se encontra a quercetina (MARRKHAM, 1982; HARBORNE, 1984). Estas substâncias absorvem radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) e do visível. O uso do complexante cloreto de alumínio ($AlCl_3$) no diagnóstico da presença de alguns grupamentos químicos foi feito pela primeira vez empregando-se antocianinas. Trata-se de um pigmento cuja estrutura química pertence ao grupo dos flavonóides, encontrado principalmente em flores, mas muitas vezes, também, em frutos, com uma coloração de vermelho a azul, com variações intermediárias. O cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonóides em metanol, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de ondas e uma intensificação da absorção. Desta maneira, é possível determinar a quantidade de flavonóides, impedindo-se a interferência das outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos presentes na própolis. A leitura é feita em espectrofotômetro a 425 nm, utilizando-se uma solução de cloreto de alumínio (WOISKY; SALATINO, 1998). Nestas condições o complexo Flavonóide-Alumínio absorve em comprimentos de ondas maiores do que o flavonóide sem a presença do complexante.

Em outro estudo foi proposto (FRANCO; KUREBAYASHI, 1986) um método de controle de qualidade para extratos de própolis, através de cromatografia bidimensional em papel e doseamento espectrofotométrico (UV e visível) para flavonóides totais. Usou-se como complexante o oxiclreto de zircônio para obter o índice de flavonóides expresso em quercetina.

Não há uma norma oficial para extrato aquoso. A Instrução Normativa Nº 3 (BRASIL, 2001) conforme o Anexo A regula a qualidade e a identificação apenas do extrato alcoólico de

própolis que deve atender aos requisitos sensoriais como aroma balsâmico e resinoso característico e cor variando entre amarelada, parda, esverdeada e marrom. Em relação ao sabor é de suave balsâmico a forte e picante, dependendo da origem botânica. Quanto aos requisitos físico-químicos, deve apresentar extrato seco mínimo de 11% (m/v); cera, máximo de 1% sobre o extrato seco (m/m); teor de flavonóides, mínimo de 0,25% (m/m); composição fenólica mínima, 0,5% (m/m); atividade oxidação, máximo de 22 segundos; teor alcoólico, máximo de 70° GL (v/v); metanol, máximo 0,40mg/l; espectro de absorção de radiações UV visível deve apresentar picos das principais classes de flavonóides entre 200nm e 400nm; hidróxido de sódio, positivo.

2.4 Métodos de extração e propriedades de extratos de própolis

A extração de substâncias pode ser realizada de diferentes maneiras, a qual envolve normalmente uma extração simples, quando a amostra é deixada em contato com o solvente a frio por um tempo determinado, com ou sem agitação, ou por uma extração exaustiva, que utiliza um aparelho com solvente aquecido, passando continuamente através da amostra (JEFFERY *et al.*, 1992).

A maneira mais comum para se extrair os princípios ativos da própolis bruta é por extração simples, conhecida como maceração. Geralmente, uma solução 30% da amostra é deixada em contato com álcool etílico P.A ou 70% (v/v). O tempo de contato da própolis bruta com o solvente pode variar de semanas a meses, com ou sem agitação, à temperatura ambiente.

Outra maneira usada nos laboratórios de pesquisas é através do extrator Soxhlet. Esta extração é mais rápida e envolve o aquecimento da amostra a cerca de 70°C. Utiliza-se normalmente como solvente o álcool etílico, o qual fica em refluxo contínuo até que o solvente, ao passar pelo sifão do Soxhlet, fique incolor. A metodologia desta extração é amplamente utilizada por pesquisadores que trabalham com produtos naturais, a qual foi adaptada para a extração da própolis brasileira (MARCUCCI, 1994, 1995).

No final de cada uma destas extrações, separam-se os resíduos insolúveis da solução etanólica por filtração ou por centrifugação. Em seguida, separa-se a cera por resfriamento desta solução a baixas temperaturas. Nestas condições a cera precipita. Assim, ao final do processo, tem-se o extrato seco (conhecido normalmente como extrato etanólico da própolis (EEP)), cera e resíduo, que podem ser pesados e quantificados. O rendimento da extração por Soxhlet é maior do que por maceração e varia de uma amostra para outra (CAETANO, 2000). Valores normalmente encontrados: EEP de 40-60% (m/m), em relação à quantidade da amostra de própolis inicial, cera de 5 - 15% e resíduo de 30-40%. A partir do extrato seco é que se devem preparar as formulações.

É possível empregar, também, a técnica de extração líquido-líquido, para separar alguns dos ácidos fenólicos (KONISHI, 2001). A eficiência da extração foi monitorada pela cromatografia líquida de alta eficiência. A extração líquido-líquido é uma técnica experimental corriqueira, que permite a separação de um composto em um sistema de duas fases, uma de solvente orgânico e outra aquosa, usando um funil de separação. Diferentes solventes orgânicos foram usados para a dissolução da própolis, tais como, clorofórmio e acetato de etila. Apesar dos ácidos fenólicos serem fracos, eles apresentam relativa solubilidade em água, mas, esta é dificultada pela presença de substâncias resinosas da própolis, que lhe conferem o caráter lipofílico. Pode-se alterar a solubilidade destes ácidos fracos através do controle do pH do meio. As várias etapas da extração foram acompanhadas com a cromatografia líquida de alta eficiência e dependendo do solvente orgânico usado, são extraídos diferentes ácidos fenólicos.

Várias literaturas descrevem procedimentos de extração diferenciados e utilizando diferentes solventes extratores. Pascual *et al.* (1994) utilizaram para testar a atividade antioxidante 1 g de amostra triturada em etanol a 95% e repouso por 48 horas a temperatura ambiente. Fernandes Jr. *et al.* (1997) utilizaram extratos obtidos triturando 50 g de amostra em 100 ml de etanol 96 °GL. Ikeno K, *et al.* (1991) aplicaram em cáries de ratos extratos etanólicos preparados com 5 volumes de etanol 99,5% a temperatura ambiente por 1 dia. Kumazawa *et al.* (2004) também utilizaram extrato etanólico obtido em temperatura ambiente por 24 horas, Kujumgiev *et al.* (1999) testaram as atividades biológicas de extratos etanólicos de própolis obtidos com etanol 70% (1:10 p/v) por 24 horas. Já Bankova *et al.* (1998) e Hegazi *et al.* (2000) obtiveram os extratos também com etanol 70%, mas realizaram a reextração após 24 horas.

Park *et al.* (1995) e Koo e Park (1997) utilizaram para cada 2 gramas de própolis 25 ml de etanol 80%, utilizando agitação por 30 minutos e temperatura de 70°C. Ao contrário de Moreno *et al.* (2000) que para cada grama de amostra pulverizada utilizaram 15 ml de etanol 80% e agitação contínua por 24 horas a temperatura ambiente. Sforcin *et al.* (2000) trituraram 30 g de própolis com 100 ml de álcool etílico 95°, utilizaram agitação moderada e temperatura ambiente. A mesma metodologia foi utilizada por Bosio *et al.* (2000), Fernandes Jr. *et al.* (2001), deixando os extratos em agitação por sete dias com amostras de *Apis mellifera*. Miorin *et al.* (2003) e Menezes *et al.* (1997) utilizaram 100 g de amostra e 200 ml de etanol 95% em um banho com agitação por 1 semana a 25°C. Fernandes Jr. *et al.* (2001), para a obtenção de extratos etanólicos de própolis de Meliponídeos, utilizaram 100 g de amostra para cada 100 ml de etanol 95%, em temperatura ambiente por dois dias.

Os ácidos aromáticos presentes na própolis, como o ácido caféico e o ácido p-cumárico, também demonstram atividade antimicrobiana e antiinflamatória (PEREIRA *et al.*, 2003). Portanto, pode-se afirmar que extratos aquosos de própolis, apresentando aroma característico,

podem conter substâncias antimicrobianas e antiinflamatórias, ainda que não contenha em concentrações terapêuticas.

Alguns autores, para testar as atividades biológicas dos extratos de própolis, utilizam extratos aquosos ao invés de etanólicos. Nagai *et al.* (2003) testaram as propriedades antioxidantes de extratos aquosos obtidos com 50g de amostra e 5 volumes de água destilada, agitação a 20°C por um dia e uma reextração do resíduo por mais um dia. Bianchini e Bedendo (1998) utilizaram extrato aquoso de própolis obtido com 100 g de própolis triturada em 1 litro de água destilada por 1-2 minutos. Além disso, outros autores como Dimov *et al.* (1991) e Ivanovska *et al.* (1995) também utilizaram extrato aquoso de própolis.

Apesar de os extratos etanólicos e aquosos serem os mais utilizados, alguns autores utilizaram outros solventes para a obtenção dos extratos de própolis. Higashi e Castro (1994) utilizaram extratos em dimetilsulfóxido além dos extratos etanólicos, triturando as amostras de própolis no solvente por 4 horas e filtrando. Fontana *et al.* (2000) obtiveram extratos com um grama de própolis extraído com 10 volumes de solventes de diversas polaridades (desde hexano até metanol) a 25 °C e deixado por um dia em agitador (100 rpm). Marcucci *et al.* (2001) utilizaram extratos metanólicos de própolis, sendo que 50 g de amostra foi extraída em aparelho de Soxhlet com metanol à quente por 8 horas.

Park e Ikegaki (1998) fizeram uma extração aquosa de própolis em temperatura ambiente e verificaram que esse extrato não inibiu o crescimento microbiano de *Staphylococcus aureus*, não apresentou ação antiinflamatória, mas apresentou atividade antioxidante sobre beta-caroteno e ácido linoléico. Esse mesmo extrato não apresentou pico de flavonóides na análise de HPLC, mas apresentou traços de quercetina e pinocembrina.

Cunha *et al.* (2004) fizeram uma extração aquosa de própolis em temperatura ambiente e encontraram 6,41% de compostos fenólicos totais, sendo que esse valor não variou significativamente com o tempo de maceração de 7 e 20 dias. Essa mesma pesquisa verificou que o rendimento de extração aquosa, % de extrato seco, aumentou de aproximadamente 11% para 16% com o aumento de tempo de maceração de 7 para 20 dias, à temperatura ambiente.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo desta pesquisa foi obter um extrato aquoso de própolis adequado para aplicação em alimentos, em concentração que não tenha efeito medicinal e que confira sabor aos alimentos.

3.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar qual tipo de própolis é mais adequado ao processo de extração proposto.
- b) Pesquisar o efeito da temperatura e do tempo de maceração sobre as propriedades físico-químicas do extrato.
- c) Verificar a aceitação do suco de goiaba adicionado de extrato de própolis.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Tipos da matéria-prima

Foram utilizadas própolis de abelha da espécie *Apis mellifera*, oriundas da região de Vitória da Conquista, Sudoeste da Bahia, produzidas no primeiro trimestre de 2007.

Dois tipos própolis - a preta e a verde – foram utilizadas porque ambas são comuns no comércio da região, apresentam composição química diferente e condições diferentes em relação ao processo de extração proposto.

4.2 Processo de extração

Propôs-se o processo de extração aquosa apresentado no fluxograma da Figura 1.

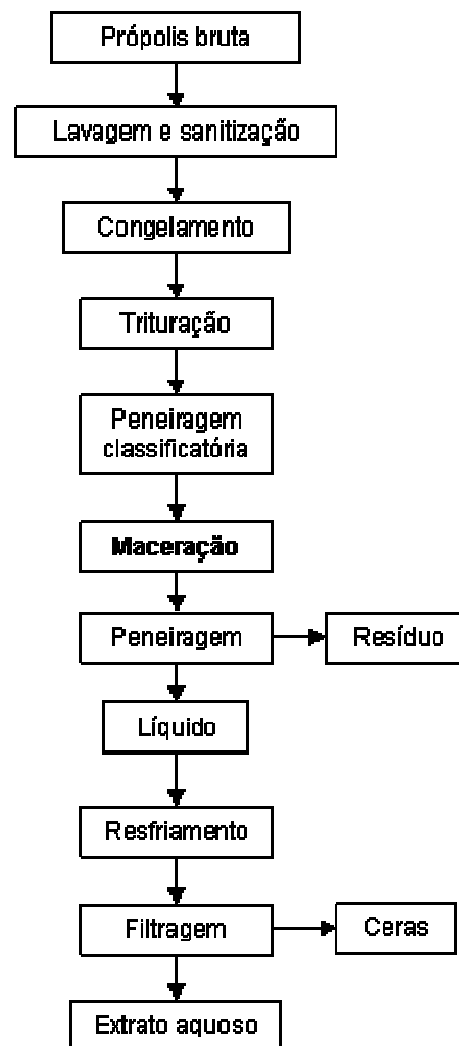


Figura 1. Processo de produção de extrato aquoso de própolis.

A lavagem e a sanitização foram necessárias para reduzir a carga microbiana oriunda da coleta da própolis bruta. Para tal, aplicou-se banho em solução de 150 ppm de Cloro ativo por 15 minutos.

Na etapa de congelamento, a própolis foi colocada em freezer a -20°C por 48 horas para sofrer a máxima solidificação e propiciar sua trituração. Na etapa de trituração, a própolis congelada foi triturada por 5 minutos em liquidificador industrial. Foi utilizado liquidificador industrial, Marca Metvisa, Modelo LQ-25, de 3.430 rpm e 1,12 kW (1,5 cv). A própolis moída foi peneirada (peneiragem classificatória) em 5 mesh (4000 μm).

Na etapa de maceração, amostras de 60g de própolis triturada e peneirada foram misturadas a 300 ml de água destilada, em recipiente de vidro transparente, hermeticamente fechado. Os recipientes foram submetidos ao banho termostático, sem agitação. Em esquema fatorial 4×4 , com três repetições, testou-se os tempos de maceração de 2, 4, 6, e 8 horas a temperaturas de 30, 45, 60 e 75°C . Essa faixa de temperaturas foi escolhida de modo a abranger o ponto de fusão da maioria das própolis: 60 a 70°C (MARCUCCI, 1996). A Figura 2 mostra o resíduo de própolis após a maceração e peneiragem.

Na etapa de resfriamento, as amostras foram resfriadas em geladeira a 5°C por 3 horas, para provocar a solidificação e precipitação das ceras que, então, foram filtradas.



Figura 2. Aspecto da própolis moída até 5 mesh e macerada.

4.3 Análises físico-químicas

Conforme a Legislação vigente (BRASIL, 2001), os extratos foram analisados em rendimento de extrato seco (RES), teor de sólidos solúveis (TSS), acidez total titulável (ATT), pH e atividade antioxidante (AA).

4.3.1 Rendimento de moagem da própolis bruta

Os dois tipos de própolis foram submetidos ao processo de extração em três repetições. Amostras de 2 kg de própolis foram submetidas às etapas de congelamento, trituração e peneiragem em 5 mesh (4000 µm). O rendimento (%) foi calculado pela a massa de própolis passada pela peneira em relação a massa da inicial da amostra.

4.3.2 Rendimento em extrato seco (RES)

Pesou-se 5,0 g de amostra de extrato de própolis em uma cápsula de porcelana previamente aquecida em estufa a 105°C por 3 horas e calibrada. Colocou a amostra em estufa a 105°C por 3 horas. Retirou-a da estufa e colocou-a em um dessecador por 1 hora, pesou-se e repetiu a operação até peso constante. Calculou-se pela Equação 1, em que R é o rendimento (% m/m), A1 é o peso da cápsula mais a amostra (antes de aquecer), A2 é o peso da cápsula mais a amostra seca, P é o peso da amostra.

$$R = \frac{100 \times (A1 - A2)}{P} \quad (1)$$

4.3.3 Índice de oxidação ou atividade antioxidante (AA)

A análise da atividade antioxidante (AA) foi feita, em duplicata, pelo método descrito em Brasil (2001). Amostras de 5 ml de extrato foram adicionadas de 100 ml de água destilada. Depois, realizou-se agitação seguida de filtragem. Colocou-se 1 ml do filtrado em tubo de 5 ml, adicionou-se 1 ml de água destilada, agitou-se e adicionou-se 1 ml de Ácido Sulfúrico a 20%. A mistura foi agitada por mais 1 minuto e, então, foi adicionada uma gota do oxidante Permanganato de Potássio, KMnO₄, 0,1N. Nesse instante, foi disparado o cronômetro para medir o tempo, em s, decorrido até a mudança da cor de amarelo para rosa. Segundo (SOUSA *et al.*, 2007), valores de até 22 s indicam atividade antioxidante.

4.3.4 pH

As medidas de pH foram feitas em pHmêtro marca Digimed MD 20.

4.3.5 Acidez total titulável (ATT)

Pesou-se 5g da amostra em um béquer de 100 ml, e transferiu para um balão volumétrico de 100 ml, lavando o béquer com água. Após isto, completou o volume com água.

Pipetou 10 ml da solução da amostra para um frasco de 250 ml. Adicionou 2 gotas de indicador fenolftaleína, titulando com solução de hidróxido de sódio 0,01N, até a coloração rósea. O resultado foi expresso em %.

4.3.6 Teor de sólidos solúveis (TSS)

O TSS, expresso em °Brix foi medido com refratômetro portátil, com a correção do valor lido em função temperatura da amostra, conforme tabela no manual do aparelho.

4.4 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada com o extrato de melhor qualidade físico-química, baseada nos resultados de RES e TSS. Esse extrato foi adicionado ao suco de goiaba pronto para beber, nas proporções de 1% e 3% porcentagem peso por peso. Essas duas amostras (1% e de 3% de extrato) e uma amostra controle (suco de goiaba sem adição do extrato) foram avaliadas por 100 provadores, utilizando escala hedônica estruturada de 5 pontos (Figura 3). Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Teste de Tukey) com um nível de significância de 5%. Também foi aplicada uma análise de frequência dos escores hedônicos.

4.5 Planejamento experimental e análise estatística

Para o experimento sobre efeito da temperatura e do tempo de maceração sobre as propriedades físico-químicas do extrato, aplicou-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4, com três repetições.

Nome: _____
Você está recebendo amostras, codificadas, de suco de goiaba. Por favor, prove e avalie o quanto você gostou ou desgostou das mesmas, utilizando a escala abaixo.
Código da amostra _____
<input type="checkbox"/> gostei muito
<input type="checkbox"/> gostei
<input type="checkbox"/> não gostei nem desgostei
<input type="checkbox"/> desgostei
<input type="checkbox"/> desgostei muito

Figura 3. Ficha utilizada para avaliação do suco de goiaba com extrato de própolis.

Testaram-se os tempos de maceração de 2, 4, 6, e 8 horas nas temperaturas de 30, 45, 60 e 75°C, representando 16 tratamentos e 48 unidades experimentais. Avaliou-se o efeito desses fatores (variável independente quantitativa) sobre as seguintes variáveis dependentes quantitativas: rendimento de extrato seco (RES), teor de sólidos solúveis (TSS), acidez total titulável (ATT), pH e atividade antioxidante (AA). Os dados foram submetidos à Análise de Regressão.

Para o experimento sobre avaliação sensorial de suco de goiaba adicionado de extrato aquoso de própolis, utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e 100 consumidores. Os tratamentos foram às concentrações o controle (suco de goiaba puro), 1% e 3% de extrato de própolis no suco de goiaba. Avaliou-se o efeito desses tratamentos sobre a variável dependente quantitativa a nota de aceitação. Embora os tratamentos sejam representados por uma variável independente quantitativa, aplicou-se Análise de Variância e Teste de Médias porque apenas três níveis de concentração de extrato não são suficientes para uma Análise de Regressão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Tipo adequado de matéria-prima

Conforme mostra a Figura 4, o processo de extração proposto não foi adequado para a própolis preta e sua moagem rendeu apenas 8,3% de farinha, em média. O congelamento seguido de trituração não foi capaz de transformar a própolis preta em farinha de granulometria de 5 mesh, satisfatória para a penetração da água na etapa de maceração. Isso ocorreu porque, após o período de congelamento à temperatura de 0°C, ela não endureceu o bastante para ser devidamente triturada. Já a própolis verde, por outro lado, apresentou moagem satisfatória e rendeu 96,5% de farinha, em média. A explicação está na maior proporção de substâncias não resinosas da própolis verde, como a maior presença de pólen (BANKOVA *et al.*, 1995).

Este resultado apresenta mais um parâmetro de maior valorização comercial da própolis verde em relação à própolis preta e também indica aos apicultores a importância de se implantar cultivos de alecrim-do-campo que leva à produção da própolis verde.

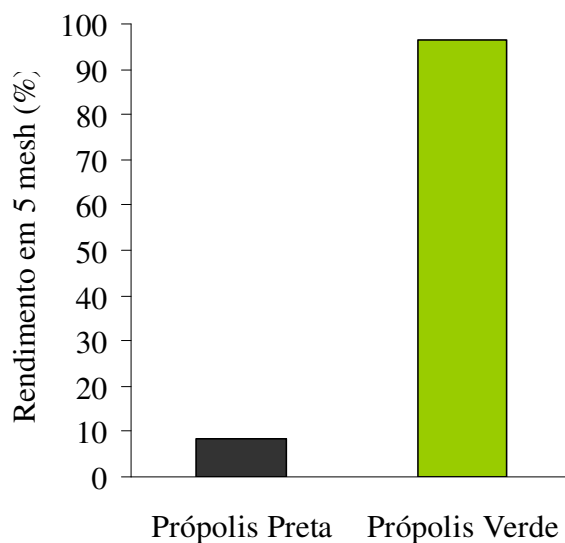


Figura 4. Rendimentos após moagem das própolis preta e verde.

5.2 Efeitos da temperatura e do tempo de maceração

O efeito da temperatura e do tempo de maceração sobre cada parâmetro de qualidade físico-química do extrato é descrito pelos modelos matemáticos (Tabela 1) e apresentado pelos gráficos das Figuras 5 a 9. Nestes gráficos, verifica-se que os valores de rendimento de extrato seco (RES), teor de sólidos solúveis (TSS), acidez total titulável (ATT) cresceram com o tempo

e, principalmente, com a temperatura de maceração. O pH e a AA decresceram com o tempo e a temperatura de maceração.

O percentual de variância explicada por cada modelo (R^2) foi muito bom, acima de 85%. As análises de preditos versus resíduos (Apêndice A, Figuras 1a a 5a) atestam a qualidade dos modelos para todos os parâmetros. As análises de frequência de distribuição do resíduo (Apêndice A, Figuras 1b a 5b) atestam a qualidade dos dados.

Tabela 1. Modelos do efeito da temperatura, x, e do tempo, y, sobre os parâmetros, z, de qualidade físico-química do extrato aquoso de própolis.

Z	Modelo	R ²
RES	$z = -1,959333 + 0,12399*x - 0,0008227*x^2 + 0,0635208*y$	0,9
AA	$z = 445,9766 - 10,918*x - 5,85483*y + 0,083787*x^2$	0,823
PH	$z = 5,312583 - 0,0148319*x + 0,0001106*x^2 - 0,0148958*y$	0,891
ATT	$z = -2,189166 + 0,131014*x - 0,0008565*x^2 + 0,1822916*y$	0,854
TSS	$z = -3,2575 + 0,190014*x - 0,001338*x^2 + 0,1027083*y$	0,873

5.2.1 Rendimento em Extrato Seco (RES)

A Figura 5 mostra que o rendimento de extrato seco (RES) cresceu com o tempo e com a temperatura de maceração, variando de 1,3 a 3,2%. A legislação brasileira (BRASIL, 2001) não estabelece limites para extratos aquosos, mas para extratos alcoólicos, o limite mínimo de RES é de 11% e pode atingir 65% (FUNARI; FERRO, 2006; PAVANELLI *et al.*, 2007). Cunha *et al.* (2004) fizeram uma extração aquosa de própolis em temperatura ambiente e verificaram que o rendimento de extração aquosa, % de extrato seco, elevou de aproximadamente 11% para 16% com o aumento de tempo de maceração de 7 para 20 dias.

Dentro das faixas de valores de tempo e temperatura estudados, a temperatura teve um efeito maior que o efeito do tempo. Por exemplo, à temperatura de 30°C, o máximo rendimento de extrato seco (RES) foi de 1,7% com 8h de maceração, mas à temperatura de 75°C o rendimento de extrato seco alcançou 3 % com 8h de maceração, quase o dobro. Esse resultado deixa claro que é compensador utilizar aquecimento no processo de extração, desde que a temperatura adotada não resulte em perda da qualidade do produto.

Avaliando-se apenas o efeito da temperatura, verifica-se uma curvatura indicando que ele pode estar próximo de seu limite, ou seja, o rendimento de extrato seco (RES) cresceu menos à temperatura de 75°C e provavelmente crescerá ainda menos se forem utilizadas temperaturas acima de 75°C. Por outro lado, o rendimento de extrato seco (RES) cresceu linearmente com o tempo, indicando que pode ser vantajoso utilizar tempos ainda maiores. Outras pesquisas deverão avaliar faixas de tempo de maceração mais amplas. A própolis bruta é bastante resistente ao desenvolvimento de fungos e bactérias, mas na forma de extrato aquoso,

podem ocorrer fermentações em poucos dias. A experiência adquirida nesta pesquisa sugere que um período seguro de maceração deva estar entre 16 e 32 horas.

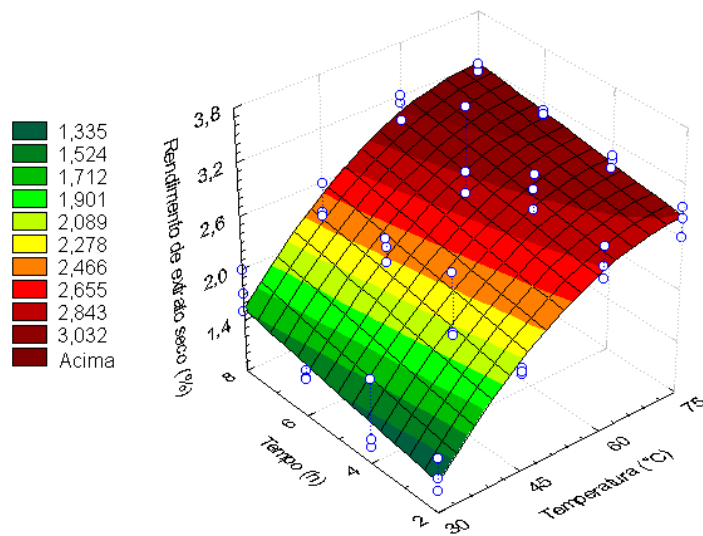


Figura 5. Rendimento de extrato seco em função do tempo e da temperatura de maceração.

5.2.2 Índice de Oxidação ou atividade antioxidativa

Os valores de atividade antioxidativa (AA), (Figura 6) variaram entre um máximo de 169,5 s e um mínimo de 56 s. Foram 169,5 s para 2 horas de maceração a 30°C e foram 56 s para 8 horas de maceração a 75°C. Silva *et al.* (2006), Chaillou *et al.* (2004) e Sousa *et al.* (2007), avaliaram a atividade antioxidativa de extratos alcoólicos e encontraram valores entre 57,4 e 9 s, variando de acordo a concentração de álcool e também conforme a origem da própolis.

Portanto, os extratos aquosos apresentaram valores maiores que aqueles apresentados por extratos alcoólicos e não apresentaram valores inferiores a 22 s, o que representaria expressiva atividade antioxidante.

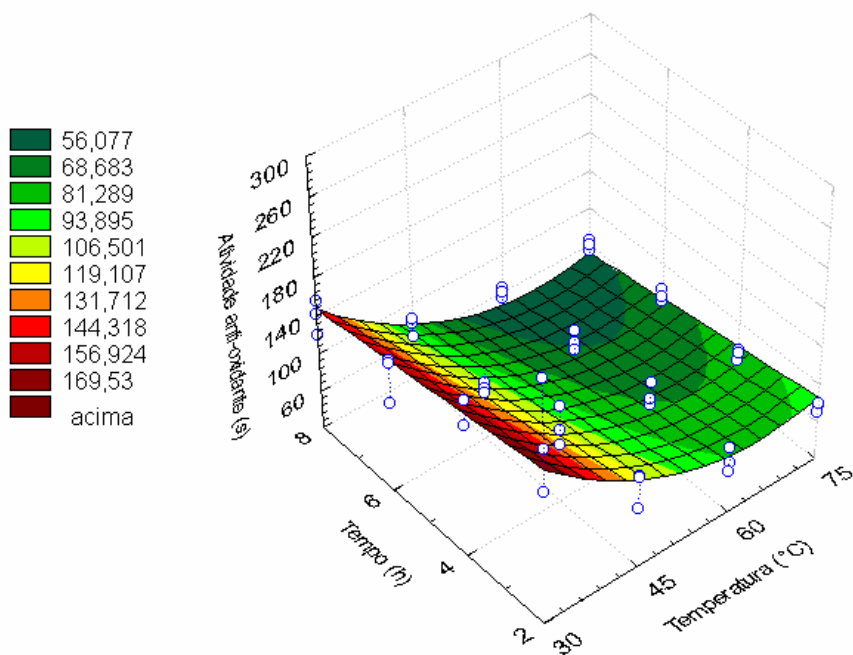


Figura 6. Atividade antioxidativa do extrato aquoso de própolis em função do tempo e da temperatura de maceração.

5.2.3 pH

O pH do extrato aquoso de própolis apresentou tendência de queda em função do tempo e da temperatura de maceração, mas variou pouco, de 4,7 a 4,9 (Figura 7). Longhini *et al.* (2007) encontraram valores de pH de 5,46 a 5,82 para extratos alcoólicos e 4,86 a 5,03 para extratos glicólicos.

O pH do extrato aquoso de própolis é comum ao pH de alguns alimentos. Frutas como goiabas apresentam pH de 3,8 (BRASIL *et al.*, 1995). Suco de laranja apresenta pH de 3,3 (SOUZA *et al.*, 2004). Assim como tais alimentos, o extrato aquoso de própolis precisa de algum método de conservação para prolongar sua vida útil.

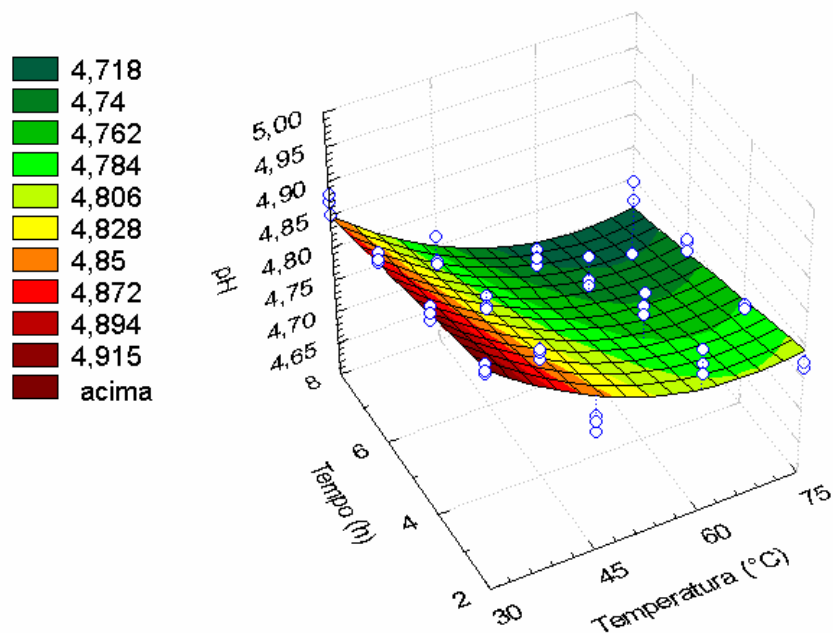


Figura 7. pH do extrato aquoso de própolis em função do tempo e da temperatura de maceração.

5.2.4 Acidez Total Titulável (ATT)

Conforme mostra a Figura 8, a acidez total titulável do extrato aquoso de própolis variou de 1,6 a 4,3%, aumentando com o tempo de maceração e, principalmente, com a temperatura utilizada no processo. O extrato aquoso de própolis apresentou valores de acidez maiores, por exemplo, que os 1,97% de suco de laranja (SOUZA *et al.*, 2004) e quase tão elevado quanto a acidez do suco de maracujá que aponta acidez total de 2,8 a 6,8% (SILVA, *et al.*, 2005).

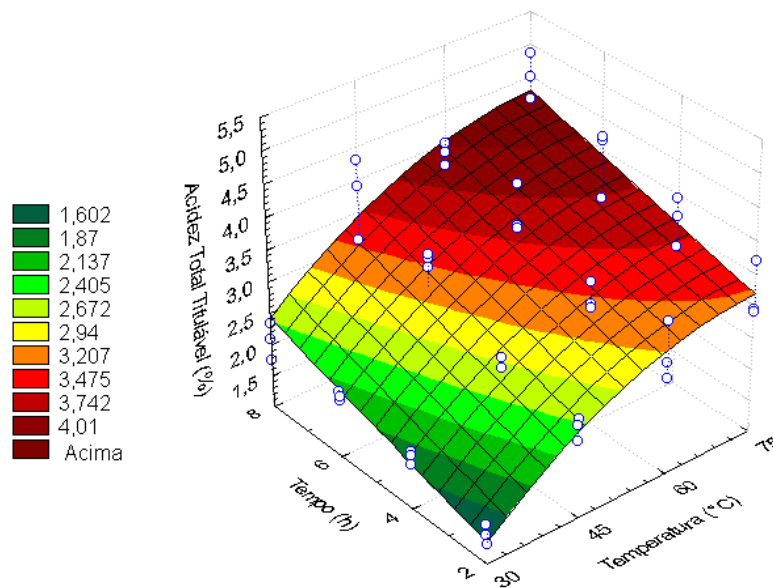


Figura 8. Acidez total titulável do extrato aquoso de própolis em função do tempo e da temperatura de maceração.

5.2.5 Teor de Sólidos Solúveis (TSS)

O teor de sólidos solúveis variou de 1,7 a 4,4°Brix, crescendo com o tempo e com a temperatura de maceração (Figura 9). O maior tempo testado, 8 horas, proporcionou aumento em torno de 1°Brix e a maior temperatura testada, 75°C, proporcionou aumento em torno de 4°Brix.

Portanto, são teores baixos se comparados a sucos e polpas de frutas maduras como, por exemplo, o teor de sólidos solúveis da polpa de acerola que varia de 4,40 a 9,16°Brix (COUTINHO, 1993). Por outro lado, são teores significativos se for considerado que mais de 95% da própolis é formada por substâncias insolúveis em água.

Deve-se ressaltar, ainda, que os sólidos solúveis, medidos por refratometria são constituídos por compostos solúveis em água, que na própolis representam substâncias, tais como açúcares, mas também, ácidos, vitaminas e várias outras substâncias. O extrato aquoso não apresentou sabor adocicado, o que favorece a aplicação em um maior número de formulações alimentícias.

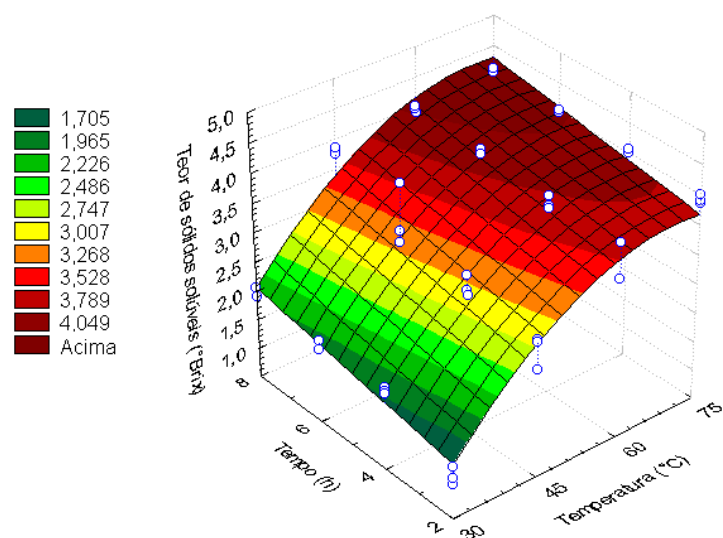


Figura 9. Teor de sólidos solúveis do extrato aquoso de própolis em função do tempo e da temperatura de maceração.

5.3 Efeito sensorial do extrato aquoso de própolis em suco de goiaba

Quanto à análise sensorial, o teste de médias (Tabela 2) mostra que a aceitação sensorial do suco de goiaba diminuiu com a adição do extrato. A adição de apenas 1% do extrato foi suficiente para reduzir a aceitação do suco de goiaba. A nota média passou de 4,24 para 3,60. Não houve diferença de aceitação entre os sucos com 1% e 3% de extrato aquoso de própolis.

Tabela 2. Aceitabilidade de suco de goiaba com 1 e 3% de extrato de própolis.

Tratamento	*Notas Médias de aceitação
Controle	4,24 a
1%	3,60 b
3%	3,62 b

*Médias seguidas de letras iguais não diferem ($P > 0,05$) pelo Teste de Tukey.

Pela análise das frequências das notas de aceitação (Figura 10), verifica-se que a proporção dos provadores que gostaram dos sucos (notas 4 e 5) foram 88%, 63% e 56% para a amostra controle, 1% e 3% de extrato de própolis, respectivamente. Esses resultados indicam que, provavelmente, seja possível atingir proporção superior a 63%, pela adição de valores inferiores a 1% de extrato de própolis.

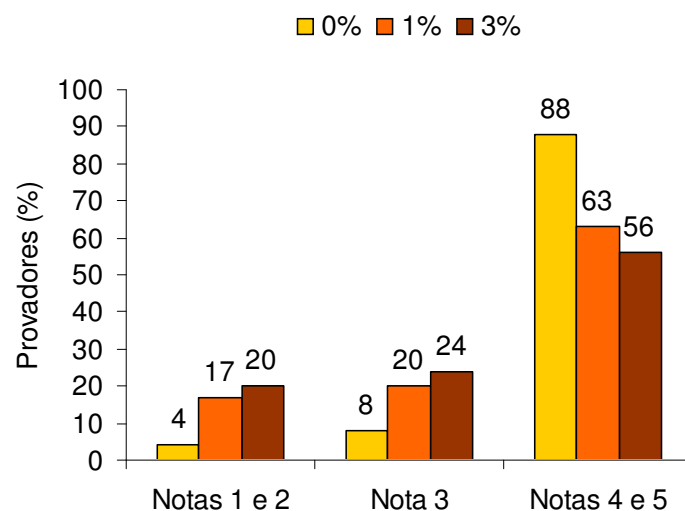


Figura 10. Análise de frequência das notas de aceitação para suco de goiaba contendo 0, 1 e 3% de extrato aquoso de própolis.

A Figura 11 (A) mostra a cor forte do extrato aquoso de própolis. As Figuras 11 (B) e (C) mostram que a cor do suco de goiaba contendo 3% de extrato de própolis não apresentou diferença perceptível em relação ao suco com 0%.

Esses resultados demonstram que o extrato aquoso de própolis apresentou sabor, odor e cor fortes o bastante para viabilizar a aplicação em formulações alimentícias. Fazem-se necessários outros estudos, testando a adição do extrato aquoso de própolis em outros alimentos.

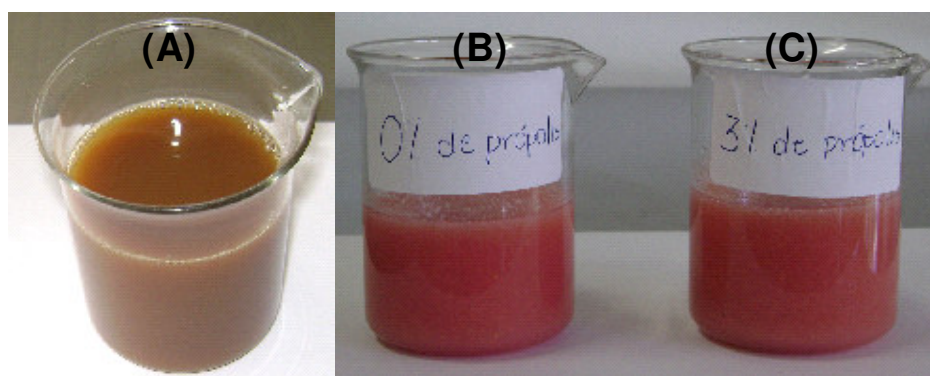


Figura 11. Foto do extrato aquoso (A) e dos sucos com 0% (B) e 3% de extrato (C).

6 CONCLUSÕES

- O processo de extração proposto neste trabalho teve sucesso na produção de um extrato de própolis adequado para fins alimentícios, pois este extrato não apresenta propriedades medicinais, não tem teor alcoólico e apresentou sabor, odor e cor característicos da matéria-prima.
- A própolis verde sim, mas a própolis preta não se presta para a obtenção de extrato aquoso, utilizando-se o processo proposto neste trabalho.
- No processo de extração proposto neste trabalho, a qualidade do extrato cresceu com o tempo de maceração e, principalmente, com a temperatura de maceração, recomendando-se a combinação de 75°C por 8 horas.
- O extrato aquoso de própolis, produzido pelo processo recomendado 75°C por 8 horas, apresentou as seguintes características físico-químicas: 3,2% de rendimento de extrato seco, 2,9 s de atividade antioxidativa, 4,7 de pH, 4,3% de acidez total titulável e 4,4 °Brix de teor de sólidos solúveis.
- A aceitação do suco de goiaba foi de 88%, 63% e 56% para 0%, 1% e 3% de extrato aquoso de própolis respectivamente enquanto a rejeição foi de 4%, 17% e 20% para 0%, 1% e 3% de própolis respectivamente.

CAPÍTULO 2

SECAGEM DE EXTRATO AQUOSO DE PRÓPOLIS EM LEITO DE ESPUMA

RESUMO

PEREIRA, D. A. **Secagem de extrato aquoso de própolis em leite de espuma**. Itapetinga-BA: UESB, 2008. (Dissertação - Mestrado em Engenharia de Alimentos - Engenharia de Processos de Alimentos).*

A transformação do extrato aquoso de própolis em pó melhora a conservação, o transporte e a comercialização dele. Objetivou-se com esta pesquisa obter esse pó, utilizando a técnica de secagem em leite de espuma. Testaram-se formulações entre os aditivos espumantes: Emustab (E), Super-Liga-Neutra (SLN), Gelatina (G) e goma Carragena (C). A formulação selecionada foi empregada nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% para formar espumas que foram avaliadas por densidade, estabilidade, rendimento de moagem, cinética de secagem e propriedades físico-químicas do produto seco. A formulação selecionada foi a E-SLN, pois apresentou densidade de 0,49 g/cm³ e o maior rendimento de moagem, 91,6%. Conforme os modelos matemáticos obtidos, a concentração de 2,2% de E-SLN minimiza a densidade em 0,35 g/cm³ e a concentração de 4,5% de E-SLN maximiza a estabilidade da espuma em 100%. A concentração de 1% foi a única que coalesceu durante a secagem. As demais secaram e não ocorreu variação significativa entre a cinética de secagem delas, que foi mais bem descrita pelo modelo de Midilli e Kucuk. O extrato em pó apresentou médias de 8,1 % de umidade, 59,2 % de solubilidade em água, Aw de 0,56 e teor de aditivos de 42%.

Palavras-chave: densidade, estabilidade, cinética de secagem, solubilidade em água.

* Orientador: Arienilmar Araújo Lopes da Silva, *DSc.*, UESB e Co-orientador: Paulo Bonomo, *DSc.*, UESB.

ABSTRACT

PEREIRA, D.A. **Foam bed drying of propolis aqueous extract.** Itapetinga-BA: UESB, 2008. (Dissertation – Food Engineering Master Degree – Food Processing Engineering).*

Transforming propolis aqueous extract into powder improve its conservation, transportation and commercialization. The purpose of this research was to obtain this powder using drying technique on foam mat. Formulations were tested among foaming additives: Emustab (E), Super-Neutral-League (SNL), Gelatin (G) and Carrageenan gum (C). The selected formulation was employed in concentrations of 1, 2, 3, 4 and 5 % forming foams that were estimated for density, stability, milling income, drying kinetic and physical-chemistry properties of the dry product. The selected formulation was the E-SNL, because it presented density of 0.49 g/cm^3 and the best grinding yield, 91.6 %. According to the obtained mathematical models, the concentration of 2.2 % of E-SNL minimizes the density in 0.35 g/m^3 and the concentration of 4.5 of E-SLN maximizes the foam stability in 100 %. The concentration of 1 % was the only that coalesced during drying. The others dried and no significative variance occurred among its drying kinetic, that was better described by Midilli and Kucuk model. The powder extract presented averages of 8.1 % of moisture, 59.2 % of water solubility, WA of 0.56 %, and 42 % of additives content.

Keywords: density, stability, drying kinetic, water solubility.

* Advisor: Arienilmar Araújo Lopes da Silva, *DSc.*, UESB and Co-advisor: Paulo Bonomo, *DSc.*, UESB

1 INTRODUÇÃO

A secagem de alimentos é importante como método de conservação, aumentando a vida útil dos alimentos, disponibilizando-os por um período maior, inclusive na entre-safra e, assim, regularizando a oferta e os preços ao consumidor. A secagem também reduz custos como manuseio, embalagem e transporte.

A secagem de alimentos líquidos é geralmente mais difícil e cara. O exemplo mais importante é o leite em pó que é produzido por meio da técnica de secagem pulverizada (spray-drier). É uma tecnologia muito cara, mas o preço final do produto não é caro devido à grande escala de produção e comercialização. Existem muitas outras opções tecnológicas para a secagem de alimentos líquidos, cada uma com vantagens e desvantagens próprias e utilização específica. A secagem em leite de espuma é uma dessas opções. As vantagens são o baixo custo e a simplicidade, e as desvantagens são a baixa produtividade e possíveis prejuízos ao sabor original que é diluído pela adição de emulsificantes e espessantes. Por isso, a secagem de espumas é mais adequada para empresas que visam pequenos mercados e para alimentos líquidos de sabor originalmente forte. O extrato aquoso de própolis enquadra-se nestas características. Em se tendo em vista tais considerações, esta pesquisa teve como objetivo secar o extrato aquoso de própolis em leite de espuma, obtendo os parâmetros ótimos quanto ao tipo e concentração de aditivos e cinética de secagem.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Espumas alimentícias e emulsões

Emulsão é o produto resultante da junção estável de duas substâncias naturalmente imiscíveis. Segundo Kokini e Aken (2006), as emulsões podem ser agrupadas em emulsões líquidas, espumas e emulsões de géis. Emulsões líquidas são aquelas em que a fase contínua e a fase dispersa são líquidas e se subdividem em água em óleo (A/O) como a margarina e O/A óleo em água (O/A) como a maionese, leite, molhos, sopa etc. As espumas são emulsões em que o ar é a fase dispersa na fase contínua líquida como sorvete, *mousse* etc. Por fim, as emulsões de géis são aquelas em que a fase contínua é semi-sólida como uma pasta ou um gel como em queijos, maionese magra, certas sobremesas e lingüiças. A presença de espessante pode ser necessária, seja na fase dispersa, seja na contínua. Para emulsões O/A, há uma grande variedade de emulsificantes possíveis entre proteínas animais ou vegetais e, como espessantes hidrofílicos, polissacarídeos (amidos e gomas). Entretanto, para emulsões A/O (margarina, por exemplo) há poucas opções de emulsificantes, apenas mono e di-glicerídeos e fosfolipídeos (lecitina). Espessantes solúveis em gordura, para fase oleosa, são ainda mais limitados. Poderiam ser utilizados ácidos graxos de cadeia longa, alguns esteróis e ceras, mas com as limitações comerciais e legais, a única opção tem sido utilizar cristais de gordura sólida misturados ao óleo.

2.2 Secagem em leito de espuma

A secagem em leito de espuma foi desenvolvida na década de 50 por Morgan e sua equipe (MORGAN, 1959), na Califórnia - EUA, e patenteada em 1961.

É uma técnica desenvolvida para promover rápida secagem de alimentos líquidos, tais como sucos de frutas. O alimento é convertido em uma espuma estável por meio da adição de agentes espumantes e incorporação de ar, nitrogênio ou outros gases, em batedeiras ou outros equipamentos geradores de espuma (BRENNAN, 1998; FELLOWS, 2000). Em seguida, a espuma é espalhada sobre uma superfície, perfurada ou não, utilizando-se geralmente camada com espessura em torno de 2 a 5 mm. A secagem resulta em um produto poroso e quebradiço, de fácil moagem e transformação em pó com boas propriedades de reidratação.

Esta técnica vem sendo muito utilizada também para alimentos pastosos como purês de frutas (GREENSRNITH, 1998; SANKAT; CASTAIGNE, 2003).

As vantagens dessa técnica em relação a outras técnicas de secagem de líquidos como a secagem pulverizada (spray-drying) e a secagem em tambor (drum-drying) são: técnica mais simples, custo operacional menor, possibilita o uso de temperaturas mais baixas o que preserva melhor o sabor e o valor nutricional (FRANCIS, 2000) e secagem mais rápida. A espuma aumenta a eficiência de secagem porque aumenta a área superficial e incrementa a transferência de calor e massa. Além disso, a capilaridade através dos poros da espuma facilita a perda da umidade. Isso faz com que a secagem de uma camada de espuma seja aproximadamente três vezes mais rápida do que a secagem de uma camada similar de líquido (FRANCIS, 2000). Segundo Karin e Wai (1998), a secagem de espuma seria até mesmo mais rápida que a secagem pulverizada e a secagem em tambor. Mais recentemente, Vernon-Carter *et al.* (2001) observaram que a secagem em espuma pode ser especialmente útil quando se deseja impedir a perda de compostos voláteis durante a operação de secagem porque em determinados espumantes, os voláteis ficam presos aos carboidratos.

A principal desvantagem dessa técnica em relação a outras técnicas de secagem de líquidos é a necessidade de grande área de superfície de secagem para que consiga atender a elevadas taxas de produção, o que eleva o custo de investimento (FRANCIS, 2000). Além dessa, outra desvantagem é que os aditivos podem modificar as características de sabor, aroma e cor do alimento. Outra desvantagem, não do método de secagem, mas do produto, é que alimentos em pó e com umidade inferior a 5% geralmente são extremamente higroscópicos, exigindo ambientes com baixa umidade relativa do ar nas operações finais de moagem, tamisação e envase.

2.3 Cinética de secagem de espumas - modelagem matemática e parâmetros

A transferência de umidade em materiais biológicos durante a secagem acontece em dois passos sucessivos. Primeiro, do interior para a superfície (transferência interna de umidade). E, segundo, evaporação da superfície para o ar (transferência externa de umidade). Se a taxa de transferência interna de umidade é igual ou maior que a taxa de transferência externa de umidade, o processo ocorre com uma taxa constante de secagem nesse período (Figura 12, B-C). Se a taxa de transferência interna de umidade é menor que a taxa de transferência externa de umidade, o processo ocorre com uma taxa decrescente de secagem nesse período (Figura 12, C-D) (DEMIREL; TURHAN, 2003).

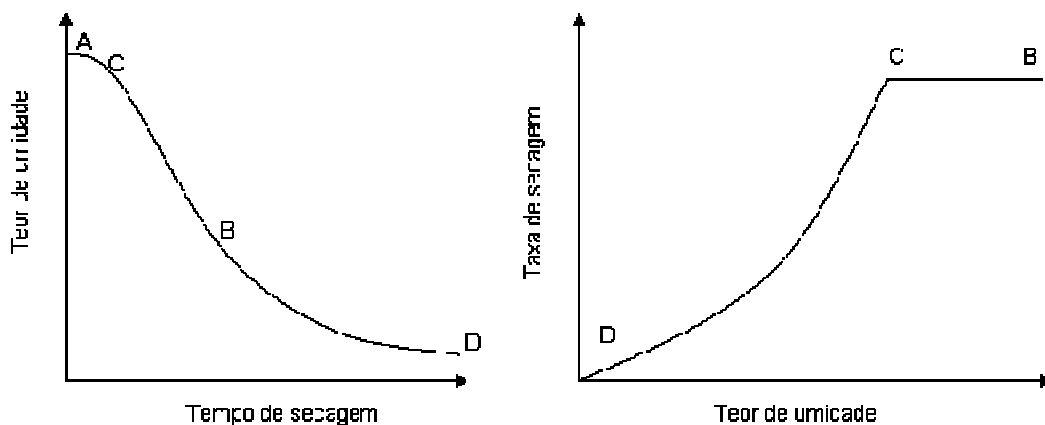


Figura 12. Curvas de secagem.

Dependendo das propriedades do material e do ar, a secagem de produtos agrícolas é caracterizada por apresentar período de taxa constante de secagem e ou período de taxa decrescente de secagem. Em geral, produtos intactos exibem apenas período de taxa decrescente de secagem e, produtos cuja integridade celular tenha sido quebrada, podem exibir período de taxa constante de secagem antes do período de taxa decrescente de secagem (MUJUMDAR, 1995; FELLOWS, 2000). A secagem de espumas envolve alimentos líquidos como sucos, extratos e polpas preparadas (purês) em que não há sequecimento tecidual, mas há apenas células dispersas na fase líquida. Portanto, considerando-se apenas as propriedades do material, espumas alimentícias normalmente apresentam período de taxa constante de secagem antes do período de taxa decrescente de secagem.

Existem duas teorias para descrever o movimento da água durante a desidratação no período de taxa decrescente: teoria difusional e teoria de fluxo por capilaridade. A mais aceita é a teoria difusional, baseada na segunda Lei de Fick. Em se assumindo que o material é homogêneo, o encolhimento durante a secagem é desprezível e que a resistência ao fluxo de água é uniformemente distribuído ao longo do interior do material, então a difusão não varia com a umidade local e a segunda Lei de Fick pode ser descrita por meio da Equação 1.

$$\frac{dM}{dt} = D \frac{d^2M}{dr^2} \quad (1)$$

Em que M é a umidade local (kg água/kg sólido seco), r é o caminho da difusão (m), t é o tempo (s) e D é a difusividade (m^2/s).

Crank (1975), citado por Akpınar (2006), apresentou as soluções analíticas da Equação 1 para várias formas regulares de material a ser seco, tais como retangular, esférico e cilíndrico. A partir dessas soluções, vários modelos empíricos e semi-teóricos têm sido

propostos (Tabela 3). Esses modelos geralmente são derivados da simplificação das soluções para a segunda Lei de Fick.

Tabela 3. Modelos de secagem em camada fina.

Newton	$MR = \exp(-kt)$
Page	$MR = \exp(-kt^n)$
Modified Page	$MR = \exp[(-kt)^n]$
Henderson and Pabis	$MR = a \exp(-kt)$
Logarithmic	$MR = a \exp(-kt) + c$
Two term	$MR = a \exp(-k_0t) + b \exp(-k_1t)$
Two-term exponential	$MR = a \exp(-kt) + (1-a)\exp(-kat)$
Wang and Singh	$MR = 1 + at + bt^2$
Diffusion approach	$MR = a\exp(-kt) + (1-a)\exp(-kbt)$
Modified Henderson and Pabis	$MR = a\exp(-kt) + b\exp(-gt) + c\exp(-ht)$
Verma <i>et al.</i>	$MR = a\exp(-kt) + (1-a)\exp(-gt)$
Midilli-Kucuk	$MR = a\exp(-kt^n) + bt$

Moiture Ratio (MR) significa a Razão de Umidade e é calculada utilizando-se a Equação 2.

$$RU = \frac{(X_t - X_e)}{(X_0 - X_e)} \quad (2)$$

Em que:

RU = razão de umidade (adimensional)

X_t = umidade no instante t (kg água / kg ms)

X_e = umidade de equilíbrio entre o ar de secagem e a espuma (kg água / kg ms)

X_0 = umidade inicial (kg água / kg ms)

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Transformar em pó o extrato aquoso de própolis, utilizando a técnica de secagem em leito de espuma.

3.2 Objetivos específicos

- a) Testar formulações de aditivos espumantes e selecionar a melhor.
- b) Avaliar o efeito da porcentagem de aditivos (formulação selecionada) sobre a qualidade da espuma.
- c) Avaliar o efeito da porcentagem de aditivos (formulação selecionada) sobre cinética de secagem da espuma.
- d) Avaliação físico-química do produto seco.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de realização do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Secagem da UESB, cidade de Itapetinga, cuja altitude média é de 268 m e pressão atmosférica de 96 kPa.

4.2 Caracterização da matéria-prima

O extrato aquoso de própolis foi avaliado em sua umidade inicial, teor de sólidos solúveis (TSS) e acidez total titulável (ATT): conforme regras Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985). Também foi avaliada a atividade antioxidante (AA), conforme regras Analíticas da Norma Oficial Brasileira para produtos apícolas (BRASIL, 2001). A análise de atividade antioxidante (AA) serve de parâmetro sobre o nível de propriedade funcional ou medicinal desta matéria-prima. Na presente pesquisa, há a necessidade de que a matéria-prima não apresente propriedade funcional, pois o produto resultante (pó) se enquadraria em outra classe de ingrediente.

4.3 Seleção de uma formulação de aditivos

Para formar espuma, foram utilizados os seguintes aditivos: emustab (E), super-liga-neutra (SLN), gelatina (G) e goma carragena (C). A gelatina e o emustab são agentes emulsificantes. A super-liga-neutra e a goma carragena são agentes estabilizantes. O emustab é um aditivo composto de monoglicerídeos, monoestearato de sorbitana e polisorbato 60. A super-liga-neutra é um aditivo composto de sacarose, carboximetil-celulose e goma guar.

Utilizou-se uma concentração fixa de 3% de aditivos. Testou-se as formulações descritas na Tabela 4 para a seleção de uma delas.

Tabela 4. Formulações (% p/p) para a formação de espuma de própolis

Código da Formulação	Emulsificantes		Espessantes		Extrato aquoso de própolis.
	Emulstab	Gelatina	Super-Liga-Neutra	Carragena	
E-SLN	1,5	-	1,5	-	97,0
E-C	1,5	-	-	1,5	97,0
G-SLN	-	1,5	1,5	-	97,0
G-C	-	1,5	-	1,5	97,0
Extrato puro	-	-	-	-	100,0

4.3.1 Preparo das espumas

A mistura dos ingredientes foi homogeneizada em liquidificador por 1 minuto. Após a homogeneização, a incorporação de ar e formação de espuma foi feita em batedeira doméstica por 4 minutos, na rotação máxima, usando apenas uma haste rotativa. Foi utilizado sempre o mesmo recipiente, de plástico, cilíndrico, de 10 cm de diâmetro e de 1000 cm³ de volume. Nesse recipiente, foi colocada uma massa de 100g de formulação (3,0 g de aditivos mais 97 g de extrato de própolis).

4.3.2 Avaliação da densidade da espuma

A mesma metodologia foi adotada por Sankat e Castaigne (2003), Karin e Wai (1998). Pela medida, avaliou-se a densidade, em duplicata, da massa de um volume fixo de espuma. Foi utilizada uma proveta de plástico, graduada, com diâmetro de 1,3 cm e capacidade de 100 cm³, adaptada para que sua borda coincida exatamente com a graduação máxima. A proveta foi preenchida com auxílio de uma seringa para evitar aprisionamento de ar e formação de grandes bolhas dentro da proveta. Também utilizou-se um fino bastão de vidro para movimentar a espuma dentro da proveta e eliminar espaços vazios. A proveta foi preenchida até transbordar e o excesso foi removido, raspando-se com uma espátula rente à borda. A densidade (g/cm³) foi avaliada pela razão entre a massa e o volume da espuma em proveta de 100 cm³.

4.3.3 Avaliação do rendimento de moagem

Amostras de 35 g de espuma foram colocadas, em duplicata, em placas de Petri de 5 cm de diâmetro e foi uniformizada a espessura da camada de espuma com uma espátula. Colocou-se para secar em estufa com circulação de ar a 75°C por 4 horas. Depois, a espuma seca foi raspada, pesada (MEf) e peneirada em peneira de 14 mesh. Pesou-se o material peneirado (MP). O rendimento de moagem (%) foi avaliado pela proporção de espuma seca que foi convertida em pó após moagem e peneiragem (14 mesh), conforme a Equação 3.

$$RE(\%) = \frac{MP \times 100}{MEf} \quad (3)$$

4.4 Efeito da concentração de aditivos sobre a qualidade da espuma

A formulação de aditivos selecionada foi utilizada nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% para preparar espumas. A qualidade dessas espumas foi avaliada pela densidade e estabilidade.

4.4.1 Avaliação da estabilidade da espuma

A estabilidade da espuma foi avaliada pela % de espuma coalescida em relação ao volume inicial. Amostras de 20 cm³, em cilindro graduado, foram submetidas à temperatura de secagem, 55°C, por 60 minutos. Este método baseia-se no método usado por Sankat e Castaigne (2003), mas difere por usar 55°C em vez de 60°C.

4.5 Efeito da concentração de aditivos sobre a cinética de secagem

Realizou-se a secagem das espumas preparadas com 1, 2, 3, 4 e 5% de aditivos espumantes da formulação selecionada. A secagem foi realizada em secador de bandejas, com ar aquecido a 55°C (Figura 13). Esta temperatura foi estipulada com base na necessidade de se utilizar a menor concentração possível de aditivos espumantes e a relativa estabilidade à temperatura de secagem. Temperaturas acima de 55°C implicariam em maior % de aditivos para garantir a estabilidade. Temperaturas abaixo de 55°C poderiam implicar em secagem demasiado lenta e com riscos de deterioração do alimento.

Amostras de massa fixada em torno de 3,0 g de espuma foram espalhadas sobre leitos não perfurados de 9 x 13 cm, de alumínio (Figura 13). A espessura da camada de espuma variou em torno de 3 mm, conforme a densidade do respectivo tratamento.

A secagem foi realizada até a espuma atingir a umidade de equilíbrio (peso constante), com pesagem das bandejas a cada 15 min. A umidade inicial e a umidade final (umidade de equilíbrio) das espumas foram determinadas em estufa a 105°C, até peso constante.



Figura 13. Espuma do extrato de própolis em bandeja de alumínio dentro do secador.

A cinética de secagem foi avaliada pela variação da Umidade da espuma (base seca decimal) e da Razão de Umidade (RU, adimensional) com o tempo (t, min) de secagem, para cada tipo de espuma (% de aditivos). A cinética de secagem também foi avaliada por meio da variação da Taxa de Secagem (g H₂O / g matéria seca*min) com a Umidade da espuma (g H₂O / g matéria seca).

Para descrever a relação entre a RU e t, foi escolhido o modelo de melhor ajuste dentre os modelos de Page (Equação 4) (ZHANG; LITCHFIELD, 1991), Henderson e Pabis (Equação 5) (HENDERSON; PABIS, 1961) e Midilli e Kucuk (Equação 6) (MIDILLI *et al.*, 2002). Estes modelos foram selecionados pela simplicidade e histórico de emprego na modelagem da secagem de sucos e purês vegetais.

$$RU = \exp(-k t^n) \quad (4)$$

$$RU = a \exp(-k t) \quad (5)$$

$$RU = a \exp(-k t^n) + bt \quad (6)$$

Em que:

RU = razão de umidade (adimensional)

k = constante de secagem (min⁻¹)

t = tempo (min)

a, b, n = constantes da equação

4.6 Avaliação físico-química do produto seco

As espumas com diferentes concentrações de aditivos, depois de desidratadas, raspadas do leite e peneiradas, foram avaliada em sua Umidade (% base úmida), sua Atividade de Água (A_w, adimensional), seu Teor de Aditivos (%) e seu Índice de Solubilidade em Água (ISA, %).

A umidade foi determinada em estufa a 105°C até peso constante. Para a determinação da atividade de água do produto, utilizou-se instrumento da marca Aqualab. O teor de aditivos foi determinado por cálculo de balanço de massas, com base na umidade da espuma úmida, umidade da espuma seca e teor de aditivos na espuma úmida.

4.6.1 Avaliação do índice de solubilidade em água

O índice de solubilidade em água (ISA) foi determinado segundo o método descrito por Wang *et al.* (2000). Pesou-se 2,5 g de amostra num tubo de centrífuga e adiciona-se 30 cm³ de

água. Os conteúdos foram misturados num agitador por 30 min, em seguida, centrifugou-se a amostra a 2.300 rpm por 10 min. Esgotou-se o sobrenadante numa placa de petri previamente pesada. Secou-se o sobrenadante a 100°C por 3h, e determinaram-se os sólidos solúveis em água. O resultado foi expresso em relação a 100 g de amostra.

4.7 Planejamento experimental e análise estatística

Para a caracterização do extrato aquoso de própolis (matéria-prima), as análises foram feitas sobre 3 repetições que foram porções diferentes de matéria-prima compradas em momentos diferentes. Os dados foram analisados, utilizando-se estatística descritiva.

Para a seleção de uma formulação de aditivos, utilizou-se delineamento Inteiramente casualizado, com 5 tratamentos (formulações, variável independente qualitativa). O efeito desses tratamentos foi avaliado, em 3 repetições, sobre as seguintes variáveis (variáveis dependentes quantitativas): densidade da espuma e rendimento de moagem. Os dados foram submetidos à ANOVA e teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para avaliar o efeito da % de aditivos sobre a qualidade da espuma, utilizou-se delineamento Inteiramente casualizado, com 5 tratamentos (níveis de E-SLN, variáveis independentes quantitativas): 1, 2, 3, 4 e 5%. O efeito desses tratamentos foi avaliado, em 3 repetições, sobre as seguintes variáveis (variáveis dependentes quantitativas): densidade da espuma e estabilidade da espuma. Os dados foram submetidos à Análise de Regressão.

No experimento, para avaliar o efeito da % de aditivos sobre a cinética de secagem, utilizou-se delineamento Inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x12, com 3 repetições. Foram espumas com 5 níveis de E-SLN: 1, 2, 3, 4 e 5% . Foram 12 períodos de tempo: 0, 15, 30, 45, ... , 165 min. O efeito desses tratamentos foi avaliado sobre a variável Razão de Umidade (variáveis dependentes quantitativas). Os dados foram submetidos à ANOVA e Análise de Regressão.

Para a avaliação físico-química do produto seco, as análises foram feitas sobre 3 repetições das espumas desidratadas anteriormente. Os dados foram analisados, utilizando-se estatística descritiva.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da matéria-prima

A Tabela 5 apresenta os resultados dos parâmetros que caracterizam a matéria-prima extrato aquoso de própolis.

Tabela 5. Características do extrato aquoso de própolis.

Parâmetro	Média e desvio padrão
Ui (%b.u.)	97,8 ± 0,3
ATT (%)	4,3 ± 0,1
TSS (°Brix)	4,4 ± 0,7
AA (s)	56 ± 18
pH	4,7 ± 0,1

A elevada umidade inicial (Ui) confirma a necessidade de se utilizar espessante, além de um emulsificante, para a formação de espuma de extrato aquoso de própolis. A atividade antioxidante (AA) acima de 22 s confirma ausência de propriedades funcionais (SOUSA *et al.*, 2007), o que é um requisito para a matéria-prima. O pH de 4,7 não é baixo o bastante para causar instabilidade na espuma para os emulsificantes empregados (Tabela 5) (KOKINI; AKEN, 2006; MLEKO *et al.*, 2007).

5.2 Seleção da formulação de espumantes

A Tabela 6 mostra que as espumas das formulações emustab e super-liga-neutra (E-SLN) e emustab e carragena (E-C) foram as que apresentaram menores valores de densidade e, portanto, as melhores na busca de secagens mais rápidas.

Quanto ao rendimento em pó, verifica-se na Tabela 6 que todas as formulações contendo o espessante Carragena apresentaram baixo rendimento. Para produção econômica de farinhas e pós, espera-se um rendimento acima de 90%. O produto seco dessas formulações apresentou-se flexível como uma película de “plástico” em vez de rígido e quebradiço. Carter *et al.* (2001) utilizou goma Mesquita entre seus aditivos e verificou que os tratamentos contendo essa goma apresentaram menor qualidade. Pode ser um indicativo de que gomas não sejam ideais para preparo de espumas alimentícias para secagem, embora amplamente empregadas como estabilizantes e espessantes em sucos, sorvetes e diversos outros produtos alimentícios.

Assim, a formulação selecionada foi a E-SLN porque ela apresentou a menor densidade, 0,49 g/cm³ e o maior rendimento de moagem, 91,6%.

Tabela 6. Efeito da combinação de aditivos sobre a densidade, D, da espuma úmida e sobre o rendimento, R, de pó *.

Formulação	D (g/cm ³)	R (%)
E-SLN	0,49 ± 0,02 c	91,6 ± 6,3 a
E-C	0,55 ± 0,01 bc	4,1 ± 2,3 d
G-C	0,64 ± 0,03 b	15,4 ± 3,8 c
G-SLN	0,61 ± 0,03 b	55,8 ± 4,1 b
Extrato puro	0,96 ± 0,02 a	0,02 ± 1,6 d

* Média e desvio padrão. Pares de médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si (P>0,05) pelo teste de Tukey.

5.3 Efeito da concentração de aditivos na densidade da espuma

A Figura 14 mostra que a densidade da espuma caiu ao se aumentar a concentração de aditivos de 1% para 2% e, a partir de 2%, a densidade apresentou pequena tendência de elevação. Essa tendência de elevação foi verificada também no estudo da espuma de purê de carambola por Karim e Wai (1999), que testaram metil celulose como espumante. Sankat e Castaigne (2003) verificaram, em purê de banana, redução significativa da densidade para concentrações de 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10% do emulsificante proteína de soja. Entretanto, somente a concentração de 10% propiciou a densidade desejável de 0,55 g/cm³. Purês são pastosos e requerem maiores concentrações de emulsificante que líquidos como o extrato aquoso de própolis.

Ajustou-se um modelo polinomial quadrático de segunda ordem inverso. Por esse modelo, Equação na Figura 14, a densidade decresceu de 0,85 g/cm³ com 1% de emustab e super-liga-neutra (E-SLN) até um mínimo de 0,35 g/cm³ com 2,2% e voltou a crescer até 0,42 g/cm³ com 5% de aditivos. Esse resultado indica a concentração de 2,2% de E-SLN como a concentração ótima para a densidade.

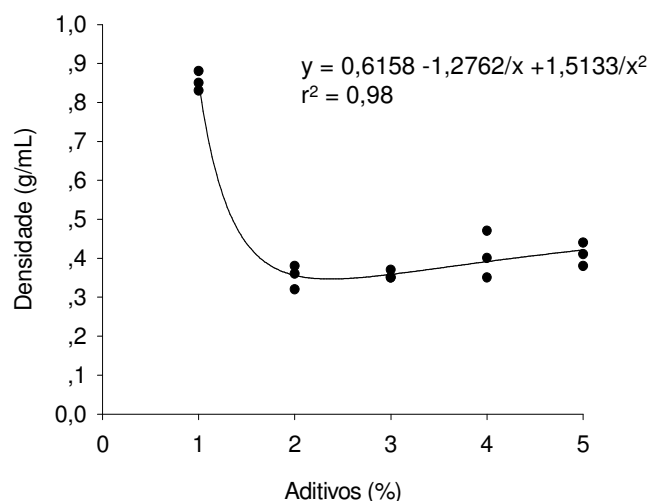


Figura 14. Efeito da % de E-SLN sobre a densidade da espuma de extrato de própolis.

5.4 Efeito da concentração de aditivos sobre a estabilidade da espuma

Conforme a Figura 15, a estabilidade da espuma cresceu com a % de aditivos. Ajustou-se um modelo exponencial, expoente simples, 3 parâmetros. Por esse modelo, Equação na Figura 15, a estabilidade cresceu de 47% com 1% de E-SLN até 100% com 4,5% de E-SLN.

Esse resultado indica que a concentração de 4,5% de E-SLN é a concentração ótima, principalmente se a secagem for realizada em leito perfurado, pois qualquer valor de volume coalescido de espuma sobre leito perfurado significa que o líquido será drenado por gravidade, gotejando de uma bandeja sobre a outra, destruindo a espuma das bandejas inferiores e se acumulando no fundo do secador.

Karim e Wai (1999) também verificaram que a estabilidade da espuma cresceu com a % de aditivos, mas sem atingir 100% de estabilidade para a maior concentração de aditivo que foi de 5% de metil celulose. Bastos *et al.* (2005), preparou espuma de polpa de manga com concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,5% de emulsificante Monoestearato de Sorbitana e verificou que não houve diferença de estabilidade entre os tratamentos. Nenhum dos tratamentos de Bastos *et al.* (2005), apresentou 100% de estabilidade. Eles então optaram pela concentração de 0,5% por estar de acordo com a legislação vigente. A espuma de própolis atingiu 100% de estabilidade porque ela foi testada a 55°C, que foi a temperatura de secagem utilizada. As espumas daqueles autores não atingiram a 100% de estabilidade por terem sido testadas a 70°C. Menores temperaturas de secagem minimizam a % necessária de estabilizante. Por exemplo, Muthukumarán *et al.* (2008) verificaram que apenas 0,125% de goma xantana foi suficiente para providenciar estabilidade na secagem refrigerada de ovo.

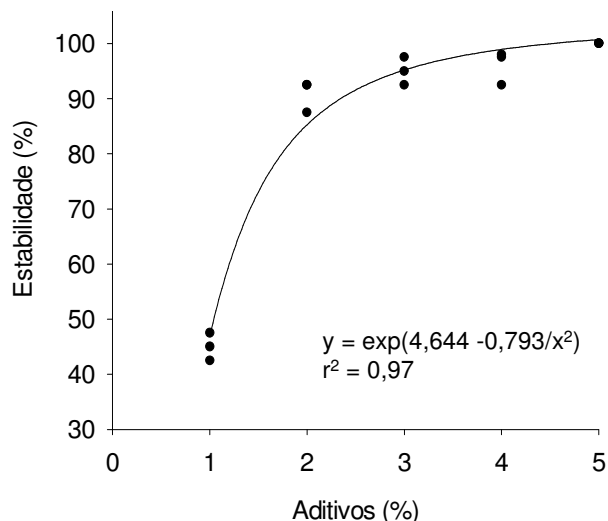


Figura 15. Efeito da % de E-SLN sobre a estabilidade da espuma a 55°C.

5.5 Efeito da concentração de aditivos na secagem da espuma

A Figura 16 mostra as curvas de secagem das espumas de extrato aquoso de própolis preparadas com 2, 3, 4 e 5% de E-SLN. A concentração de 1% de E-SLN também foi submetida à secagem, mas o nível de apenas 47% apresentado no teste de estabilidade não foi suficiente para impedir sua coalescência durante a secagem. Por isso, não há a curva para a concentração de 1%.

Observa-se, na Figura 16, que as umidades iniciais foram diferentes. Essa diferença ocorreu em razão da adição de massa seca de aditivos ao extrato aquoso de própolis. O valor médio de umidade inicial das espumas com 2, 3, 4 e 5% de aditivos foi, respectivamente, 95,69%, 94,85%, 94,00% e 93,15%, base úmida. Esses valores equivalem a 22,22, 18,42, 15,66 e 13,60 em base seca decimal.

Quanto à umidade ao fim da secagem, o valor médio de umidade de equilíbrio das espumas com 2, 3, 4 e 5% foi, respectivamente, 12,32%, 8,99%, 8,35% e 2,82%, base úmida. Esses valores equivalem a 0,14, 0,10, 0,09 e 0,03 em base seca decimal, valores não visíveis na Figura 16.

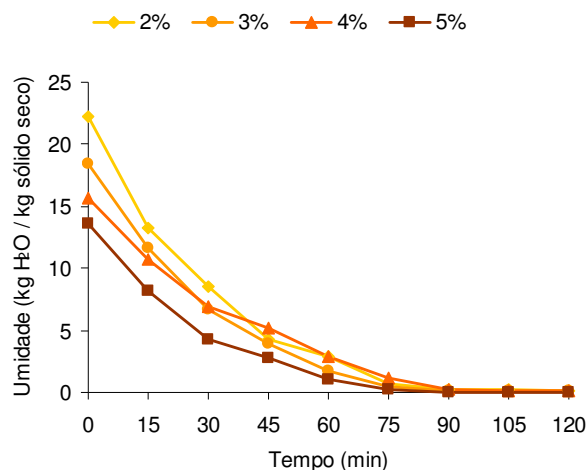


Figura 16. Cinética de secagem de espumas de própolis com diferentes % de E-SLN, a 55°C.

Todos os alimentos apresentam período de taxa de secagem decrescente, mas nem todos apresentam período de taxa de secagem constante (BRENNAN, 1998; MUJUMDAR, 1995; FELLOWS, 2000; PARK *et al.*, 2007). Essa informação é necessária para a correta modelagem da secagem. A Figura 17 mostra que não ocorreu período de taxa de secagem constante. Este mesmo comportamento foi verificado por Karim e Wai (1999) com espuma de purê de carambola e por Rajkumar *et al.* (2007) com espuma de purê de manga. Por outro lado, Thuwapanichayanan *et al.* (2008) relataram a ocorrência de período de taxa de secagem constante na secagem de purê de banana.

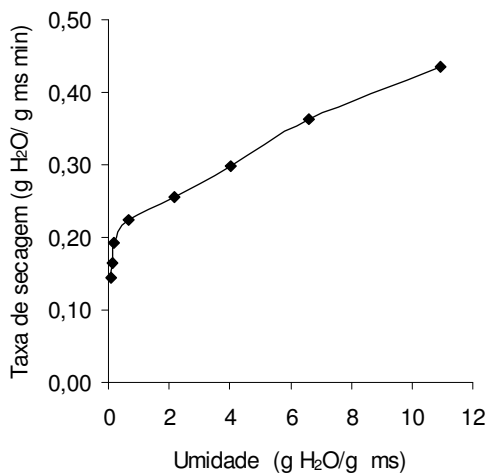


Figura 17. Curva média da taxa de secagem das espumas de própolis.

A análise de variância (Apêndice B) mostrou que o tempo de secagem teve efeito significativo sobre a razão de umidade das espumas, mas as concentrações de 2 a 5% de E-SLN não tiveram efeito significativo ($p > 0,05$) sobre a razão de umidade, o que é ilustrado pela

Figura 18. Portanto, o estudo da cinética da razão de umidade permite afirmar que, independentemente das concentrações de aditivos e da umidade inicial, todas as espumas perderam 100% de sua umidade em torno de 120 min.

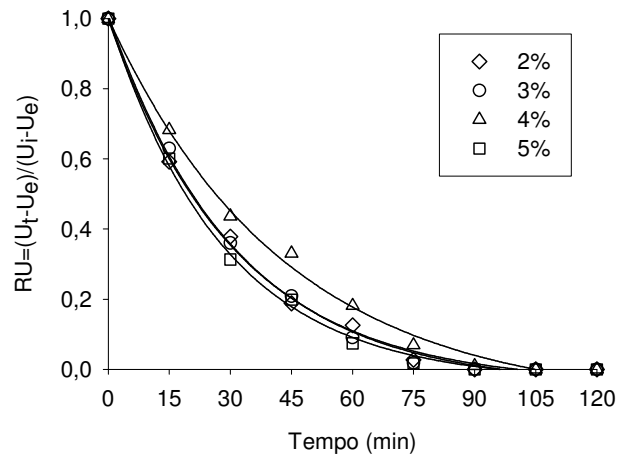


Figura 18. Variação da razão de umidade com o tempo de secagem das espumas de própolis com diferentes concentrações de E-SLN.

Esse resultado, em que não se verificou diferença significativa na rapidez de secagem entre as diferentes concentrações de aditivo, era esperado em razão do resultado de densidade das espumas (Figura 14), que não variou entre as concentrações de aditivos. Thuwapanichayanan *et al.* (2008) testaram espumas com densidades de 0,3, 0,5 e 0,7 g/cm^3 e observaram secagens mais rápidas para as espumas menos densas.

Como não houve diferença entre as curvas de secagem para as diferentes concentrações de emustab e super-liga-neutra (E-SLN), utilizou-se o valor médio entre 2, 3, 4 e 5% para cada instante de tempo. Testaram-se ajuste dos modelos de Page, Henderson Pabis e Midilli Kucuk sobre esses valores médios conforme mostra a Figura 19. Verifica-se que todos os modelos apresentaram ajuste satisfatório, mas o modelo de Midilli Kucuk foi mais representativo que os demais em relação ao período de 60 a 105 min. Comparando-se o coeficiente de determinação, r^2 , Tabela 7, confirma-se o melhor ajuste do modelo de Midilli Kucuk.

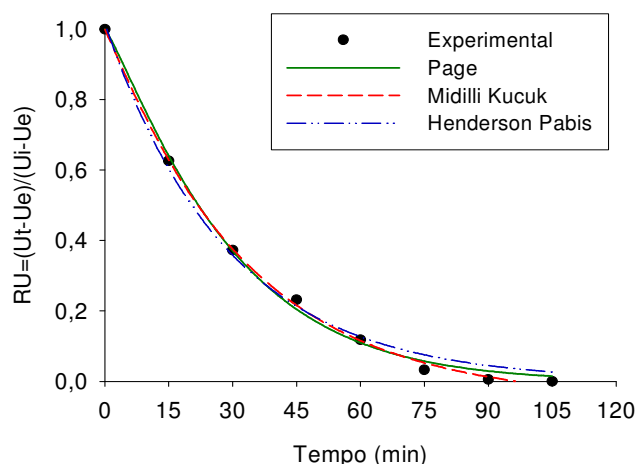


Figura 19. Variação, experimental e predita, da razão de umidade média com o tempo de secagem da espuma de própolis a 55°C.

A constante de secagem, k , para o melhor modelo foi de $0,0257 \text{ min}^{-1}$ (Tabela 7). É um valor elevado se comparado com a secagem de alimentos em pedaços. Por exemplo, Akpinar (2006) encontrou valor de $0,006 \text{ min}^{-1}$ para a secagem de fatias de maçã a 60°C e velocidade de ar de secagem de 1 m/s. Mas é um valor normal para secagem de espumas. Sankat e Castaigne (2003) encontraram $0,0126 \text{ min}^{-1}$ para espuma de purê de banana na secagem a 60°C. Na pesquisa da secagem de espuma de polpa de tamarindo, usando 5% de aditivo e com densidade de $0,45 \text{ g/cm}^3$, Gurjão (2006) encontrou $0,0132 \text{ min}^{-1}$ a 55°C e $0,306 \text{ min}^{-1}$ a 70°C. É normal que, para uma mesma temperatura de secagem e densidade, espumas de alimentos líquidos apresentem maior constante de secagem em relação a espumas de alimentos pastosos (purês), pois apresentam menor teor de sólidos totais.

Tabela 7. Parâmetros dos modelos da secagem de espuma de própolis.

Constantes e coeficiente	Modelos		
	Henderson e Pabis	Page	Midilli e Kucuk
a	1,0159	-	0,9992
b	-	-	-0,0004
n	-	1,1543	1,0601
k	0,0347	0,0196	0,0257
r^2	0,9938	0,9973	0,9990

Com base nos resultados da avaliação de densidade, estabilidade e cinética de secagem, a concentração recomendada de aditivos é 2%, pois ela é suficiente para propiciar a secagem e a obtenção de extrato de própolis em pó, condicionada ao uso de leito não perfurado (bandejas).

Para uma comparação, cita-se um trabalho de pesquisa sobre uma matéria-prima semelhante: secagem da espuma de extrato aquoso de hibisco (BENSTAIN *et al.*, 1993). Eles

recomendaram 2% da combinação de dois emulsificantes, Sorbac 60-Polydorbac 80, mais 5% do espessante maltodextrina.

5.6 Avaliação físico-química do produto seco

Os valores de umidade e atividade de água, Tabela 8, são adequados para uma boa conservação do produto (Figura 20). Quanto ao índice de solubilidade em água (ISA), é um valor baixo se comparado ao valor exigido para preparados sólidos para refrescos (BRASIL, 1998) e mostra a necessidade de usar equipamentos, como liquidificador, para completa dissolução ao se aplicar o extrato em pó na composição de formulações alimentícias líquidas.

Tabela 8. Parâmetros físico-químicos de extrato aquoso de própolis em pó.

Umidade (% b.u.)	ISA (%)	A _w *	Teor de aditivos (%)
8,1 ± 3,9	59,2 ± 3,1	0,56 ± 0,03	44,2

* Para uma temperatura de 24,8°C.



Figura 20. Aspecto visual da matéria-prima extrato aquoso de própolis e do produto de seco.

A condição de uso alimentício do extrato de própolis em pó deve ser discutida. Para a concentração recomendada de aditivos para o preparo da espuma, deve-se calcular a concentração de aditivos na espuma desidratada. Em se fazendo um balanço de massas, se a espuma úmida de própolis contém 95,9% de umidade inicial e 2% de aditivos, então a espuma desidratada apresentando 12% de umidade contém 42% de aditivos, 21% de emulsificante e 21% de espessante. Estes valores estão acima do permitido pela legislação para qualquer categoria de alimento. Para sobremesas, por exemplo, a legislação permite um máximo de 0,5% para espessante e 0,5% para emulsificante (ANVISA, 1999). Entretanto, o extrato de própolis

em pó não é um produto e sim um ingrediente que poderá ser empregado em proporções calculadas na formulação de novos produtos alimentícios.

6 CONCLUSÕES

- A melhor formulação de aditivos foi emustab com super-liga-neutra, com densidade de 0,49 g/cm³ e rendimento de 91,6%.
- 2,2% de E-SLN foi a concentração que minimizou a densidade em 0,35 g/cm³.
- 4,5% de E-SLN foi a concentração que maximizou a estabilidade em 100%.
- A concentração de 1% de E-SLN apresentou estabilidade de apenas 47% e sofreu coalescência durante a secagem. As concentrações de 2, 3, 4 e 5% de aditivos secaram satisfatoriamente.
- A concentração ótima de E-SLN foi de 1% cada, totalizando 2% de aditivos. Esta concentração não foi totalmente estável, mas para a secagem em leite não perfurado (bandeja), propiciou a secagem e a obtenção do produto em pó.
- O valor médio de umidade inicial das espumas com 2, 3, 4 e 5% de aditivos foi, respectivamente, 95,69%, 94,85%, 94,00% e 93,15%, base úmida. Quanto à umidade ao fim da secagem, o valor médio de umidade de equilíbrio das espumas, respectivamente, 12,32%, 8,99%, 8,35% e 2,82%, base úmida.
- As curvas de secagem não apresentaram período de taxa de secagem constante.
- O tempo de secagem teve efeito significativo sobre a razão de umidade das espumas, mas as concentrações de 2 a 5% de E-SLN não tiveram efeito significativo ($p > 0,05$) sobre a razão de umidade.
- O modelo de Midilli Kucuk foi o que melhor descreveu a secagem de espuma de própolis e apresentou constante de secagem, k, de 0,0257 min⁻¹.
- O produto final apresentou 8,1 de umidade, solubilidade de 59,2 e atividade de água de 0,56.

REFERÊNCIAS

- AGA, H.; SHIBUYA T.; SUGIMOTO T.; KURIMOTO M.; NAKAJIMA S. Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 58, n. 5, p. 945-946, 1994.
- AKPINAR, E. K. Determination of suitable thin layer drying curve model for some vegetables and fruits. **Journal of Food Engineering**, v.73, p.75-84, 2006.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 388**, de 5 de agosto de 1999. "Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 19 - Sobremesas". Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public>>. Acesso em: 24 jul. 2008.
- APICULTURA**. Disponível em: <<http://www.breyer.ind.br/apicultura/apicultura.html>>. Acesso em: 14 jun. 2007.
- ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, p. 419-421, 2000.
- ARVOUET-GRAND, A.; VENNAT, B.; POURRAT, A.; LEGRET, P. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. **Journal Pharm. Belg.**, v. 49, p. 462-468, 1994.
- AYALA, F.; LEMBO, G.; NAPPA, P.; BALATO, N. Contact dermatitis from propolis. **Contact dermatitis**, v. 12, p. 181-182, 1985.
- BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; KUJUMGIEV, A.; MARCUCCI, M. C.; POPOV, S. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. **Revista Zeitschrift Fur Naturforschung**, v. 1995, p. 167-172, 1995.
- BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; STOEV, G.; POPOV, J. Determination of phenolics from propolis by capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 607, p. 150-151, 1992.
- BANKOVA, V.; POPOV, S.; MAREKOV, N.L. A study on flavonoids of propolis. **Journal of Natural Products**, v. 46, p. 471-474, 1983.
- BANKOVA, V.; BOUDOUROVA-KRASTEVA, G.; POPOV, S.; SFORCIN, J. M.; FUNARI, S. R. C. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. **Revista Apidologie**, v. 29, p. 361-367, 1998.
- BANKOVA, V.; CASTRO, S. L. D.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Revista Apidologie**, v. 31, p. 3-15, 2000.
- BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, I. K.; MIDORIKAWA, K.; MATSUSHIGE, K.; MESSAGE, D.; HUERTAS, A. A. G.; KADOTA, S. Cytotoxic hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Perú, the Netherlands and China. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, n. 1-2, p. 239-246, 2000.

BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; PRASAIN, J. K.; MATSUSHIGE, K.; SAIKI, I.; KADOTA, S. Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities. **Journal of Natural Products**, v. 29, p. 896-900, 1998.

BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, I.K. E Hepatoprotective and anti-*Helicobacter pylori* activities of constituents from Brazilian propolis. **Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology**, v. 8, p. 16-23, 2001.

BASTOS, B. da S.; SOARES, D. M. B. G.; ARAÚJO, K. G. L.; VERRUMA-BERNARDI, M. R. Desidratação da polpa de manga Tommy Atkins" utilizando a técnica de foam mat drying - Avaliações químicas, físico-químicas e sensoriais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.4, p.283-290, 2005.

BENSTAIN, C. I.; GARCIA, H. S.; VAZQUEZ, A. Foam-mat dehydration of jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) instant drink. **Drying Technology**, v.11, n.1, p.221-228, 1993.

BIANCHINI, L.; BEDENDO, I. P. Efeito antibiótico da própolis sobre bactérias fitopatogênicas. **Revista Sci agric**, Piracicaba, v. 55, p. 149-152, 1998.

BOSIO, K.; AVANZINI, C.; D'AVOLIO, A.; OZINO, O.; SAVOIA, D. In vitro activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. **Revista Letters in applied Microbiology**, v.31, p. 174-177, 2000.

BOUDOROVA-KRAVSTEVA, G.; BANKOVA, V.; SFORCIN, J. M.; NIKOLOVA, N.; POPOV, S. Phenolics from Brazilian propolis. **Revista Zeitschrift Fur Naturforschung**, v. 52c, p. 676-679, 1997.

BRASIL, I. M.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W. Mudanças físico-químicas durante a extração e clarificação de suco de goiaba (*Psidium guajava* L var. Pomifera). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 8, p. 1097-1106, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 3**, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1798>>. Acesso em: 28 ago. 07.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Portaria 544**, de 16 de Novembro de 1998. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para preparado sólido para refresco. Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=1150>>. Acesso em: 30 mar. 2008.

BRENNAN, J. G. **Food Dehydration - A Dictionary and Guide**. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1998. 189p.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicology**, n. 36, p. 347-363, 1998.

CAETANO, F. M. **Metodologias de extração de própolis do Sul de Minas Gerais**. 2000. Dissertação (Mestrado) - Universidade São Francisco.

CHAILLOU, L. L.; HERRERA, H. A.; MAIDANA, J. F. Estudio del propoleos de Santiago del Estero, Argentina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 11-15, 2004.

COUTINHO, E. P. **Avaliação do processamento de polpa de acerola (*Malpighia glabra* L.), em sistemas convencionais de industrialização**. João Pessoa, 1993. 101p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba.

CRANK, J. **The mathematics of diffusion**. Oxford: Clarendon Press. 1975.

CUNHA, I. B. S.; SAWAYA, F. M. C.; SHIMIZU, M. T.; MARCUCCI, M. C.; DREZZA, F. T.; POVIA, G. S. E CARVALHO, P. O. Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 6, p. 964-970, 2004.

DEMIREL, D.; TURHAN, M. Air-drying behavior of Dwarf Cavendish and Gros Michel banana slices. **Journal of Food Engineering**, n.59, p.1-11, 2003.

DIMOV, V.; IVANOVSKA, N.; MANOLOVA, N.; BANKOVA, V.; NIKOLOV, N.; POPOV, S. Immunomodulatory action of propolis - Influence on antiinfectious protection and macrophage function. **Revista Apidologie**, v. 22, n. 2, p. 155-162, 1991.

DOBROWOLSKI, J.W.; VOHORA, S.B.; SHARMA, K.; SHAH, S.A.; NAQVI, S.A.H.; DANDIYA, P.C. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. **Journal of ethnopharmacology**, v. 35, p. 77-82, 1991.

ESSER, B. Allergy due to propolis. **Aktuelle Dermatologie**, v. 12, p. 203-205, 1986.

FELLOWS, P. **Food Processing Technology**. Principles and Practice. 2nd ed. New York: CRC Press. 2000. 562p.

FERNANDES JR, A.; LEOMIL, L.; FERNANDES, A. A. H.; SFORCIN, J. M. The antibacterial activity of propolis produced by *Apis mellifera* L. and Brazilian stingless bees. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 7, n. 2, p. 1-9, 2001.

FERNANDES JR, A.; LOPES, C. A. M.; SFORCIN, J. M.; FUNARI, S. R. C. Population analysis of susceptibility to propolis in reference strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 3, n. 2, 1997.

FONTANA, J. D.; PASSOS, M.; SANTOS, M. H. R. D.; FONTANA, C. K.; OLIVEIRA, B. H.; SCHAUSE, L.; PONTAROLO, R.; BARBIRATO, M. A.; RUGGIERO, M. A.; LANÇAS, F. M. Profiling propolis flavonoids by means of micellar electrokinetic capillary chromatography, capillary gas chromatography and bactericidal action. **Chromatographia**, v. 52, n. 3-4, p. 147-151, 2000.

FRANCIS, F. J. **Encyclopedia of Food Science and Technology**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2000. v. 1. 2907 p.

FRANCO, T. T.; KUREBAYASHI, A. K. Isolamento dos princípios ativos de Propolis em cromatografia em papel. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 46, n. 1-2, p. 81-86, 1986.

FRENKEL, K.; WEI, H.; BHIMANI, R.; YE, J.; ZADUNAISKY, J. A.; HUANG, M.; FERRARO, T.; CONNEY, A. H.; GRUNBERGER, D. Inhibition of tumor promoter-mediated processes in mouse skin and bovine lens by caffeic acid phenethyl ester. **Cancer Research**, n. 53, p. 1255-1261, 1993.

FUNARI, CRISTIANO S.; FERRO, VICENTE O. Análise de própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** Campinas, v.26, n.1, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010120612006000100028&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 05 mar. 2008.

GARCIA-VIGUERA, C.; FERRERES, F.; TOMÁS-BARBERÁN F.A. Study of Canadian propolis by GC MS and HPLC. **Z. Naturforsch.**, v. 48c, p. 731-735, 1993.

GHISALBERTI, E.L. Propolis: a review. **Bee World**, v. 60, p. 59-84, 1979.

GREENAWAY, W.; MAY, J.; SCAYSBROOK, T.; WHATLEY, F. R. Identification by gas chromatography mass spectrometry of 150 compounds in propolis. **Zeitschrift für Naturforschung**, n. 46, p. 111-121, 1991.

GREENAWAY, W.; SCAYSBROOK, T.; WHATLEY, F.R. The composition and plant origins of propolis. **Bee World**, v. 71, n. 3, p. 107-118, 1990.

GREENSRNITH, M. **Practical Dehydration**, 2nd ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. 1998. p. 302.

GURJÃO, K. C. O. **Desenvolvimento, armazenamento e secagem de tamarindo (*Tamarindus indica* L.)**. Dissertação (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, 2006. 165p.

HAMMERSCHMIDT, P.A.; PRATT, D.E. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **J. Food Sci.**, v.43, p.556-559, 1978.

HARBORNE, J.B. **Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis**. ed. Chapman and hall, London. 1984.

HAUSEN, B.M.; WOLLENWEBER, E.; SENFF, H.; POST, B. Propolis allergy I. Origin properties usage and literature review. **Contact dermatitis**, v. 17, p. 163-170, 1987.

HEGAZI, A. G.; HADY, F. K. A.; ALLAH, F. A. M. A. Chemical composition and antimicrobial activity of European propolis. **Zeitschrift Fur Naturforschung**, v. 55, p. 70-75, 2000.

HENDERSON, S. M.; PABIS, S. Grain drying theory I. Temperature effect on drying coefficients. **Journal of Agricultural Engineering Research**, London, GB, v. 6, n. 3, p. 169-174, 1961.

HIGASHI, K. O.; CASTRO, S. L. D. Propolis extracts are effective against *Trypanosoma cruzi* and have an impact on its interaction with host cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 43, p. 149-155, 1994.

IKENO, K.; IKENO, T.; MIYAZAWA, C. Effects of propolis on dental-caries in rats. **Caries Research**, v. 25, n. 5, p. 347-351, 1991.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3 ed. São Paulo, 1985. v. 1.

IVANOVSKA, N.D.; DIMOV, V.D.; BANKOVA, V.; POPOV, S. Immunomodulatory action of propolis. VI. Influence of a water soluble derivative on complement activity in vivo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 47, p. 145-147, 1995.

JEFFERY, G.H.; BASSETT, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R.C. (revisores). **Vogel** - Análise química quantitativa. 5. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 1992.

KARIM, A. A.; WAI, C. C. Foam mat drying of starfruit (*Averrhoa carambola* L.) pureé. Satbility and air drying characteristics. **Food Chemistry**, n.64, p.337-343, 1999.

KOKINI, J.; AKEN, G. V. Discussion session on food emulsions and foams. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 438-445, 2006.

KONISHI, S. **Análise da influência de agentes solubilizantes na extração da própolis visando uma preparação de spray hidroalcolica** 2001. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas: Insumos e Medicamentos) - Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde Universidade São Francisco, São Paulo.

KOO, H.; GOMES, B.P.F.A.; ROSALEN, P.L.; AMBROSANO, G.M.B.; PARK, Y.K.; CURY, J.A. In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. **Archives of Oral Biology**, v. 45, n. 2, p. 141-148, 2000.

KOO, M. H.; PARK, Y. K. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 61, p. 367-369, 1997.

KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJIEVA, Y.; BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; POPOV, S. Antibacterial, antuifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, p. 235-240, 1999.

KULEVANOVA, S.; STAFILOV, T.; DOREVSKI, K. Determination of some macroelements in propolis by atomic absorption spectrometry. **Acta Pharm.**, v. 45 p. 45-52 1995.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry**, v. 84, p. 329-339, 2004.

LONGHINI, R.; RAKSA, S. M.; OLIVEIRA, A. C. P.; SVIDZINSK, T. I. E.; FRANCO, S. L. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v.17, n. 3, p. 388-395; 2007.

MANN, J.; DAVIDSON, S.; HOBBS, J.; BANTHORPE, D. **Natural products: their chemistry and biological significance**. Logmann: Harlow, 1994. 455 p.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, p. 83-99, 1995.

MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, v. 19, n. 5, p. 529-535, 1996.

MARCUCCI, M. C.; WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis. **Revista Mensagem Doce**, v. 46, p. 22-24, maio 1998.

MARCUCCI, M.C. Relatório de atividades do CNPq. **Própolis brasileiras: um estudo químico associado as suas propriedades biológicas**, 1994-1995. Pesquisador Associado, Processo: 301107/86-6.

- MARCUCCI, M.C.; FERRERES, F.; CUSTÓDIO, A.R.; FERREIRA, M.M.C.; BANKOVA, V.S.; GARCIA-VIGUERA, C.; BRETZ, W.A. Evaluation of Phenolic Compounds in Brazilian Propolis from Different Geographical Regions. **Z. Naturforsch.** v. 55c, p. 76-81, 2000.
- MARCUCCI, M.C.; FERRERES, F.; GARCÍA-VIGUERA, BANKOVA, V.S.; DE CASTRO, S.L.; DANTAS, A.P.; VALENTE, P.H.M.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 105-112, 2001.
- MARKHAM, K.R.; MITCHELL, K.A.; WILKINS, A.L.; DALDY, J.A.; LU, Y. HPLC; CG-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. **Phytochemistry**, n. 42, p.205-211, 1996.
- MARRKHAM, K.R. **Techniques of flavonoid identification**. Academic Press, London. 1982,
- MATSUDA, S. H. Propolis – health care food. **Foods and Foods Ingredients Journal of Japan**, v. 160, p. 64-73, 1994.
- MENEZES, H.; JR, M. B.; OLIOVEIRA, S. D.; PAGNOCCA, F. C. Antibacterial properties of propolis and products containing propolis from Brazil. **Apidologie**, v. 28, n. 2, p. 71-76, 1997.
- MERINO, N.; GONZALEZ, R.; GONZALEZ, A.; REMIREZ, D. Histopathological Evaluation on the Effect of Red Própolis on Liver Damage Induced by CCl₄ in Rats. **Archives of Medical Research**, Mexico City, v.27, n.3, p.285-289, 1996.
- MIDILLI, A.; KUCUK, H.; YAPAZ, Z. A new model for single-layer drying. **Drying Technology**, New York, v.20, n.7, p.1503-1513, 2002.
- MIORIN, P. L.; JUNIOR, N. C. L.; CUSTODIO, A. R.; BRETZ, W. A.; MARCUCCI, M. C. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 913-920, 2003.
- MLEKO, S.; KRISTINSON, H. G.; GUSTAW, L. W. Rheological properties of foams generated from egg albumin after pH treatment. **LWT Food Science and Technology**, v.40, p.908-914; 2007.
- MORENO, M. I. N.; ISLA, M. I.; SAMPIETRO, A. R.; VATTUONE, M. A. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 109-114, 2000.
- MORGAN, A. I.; GINETTE, L. F.; RANDALL, J. M.; GRAHAM, R. P. Technique for improving instant foods. **Food Engineering**, v.31, n.9, p.89-94, 1959.
- MUJUMDAR, A. S. **Handbook of industrial drying**. 2nd ed. Marcel Dekker, New York. 1995. v.1. 742p.
- MUTHUKUMARAN, A.; RATTI, C.; RAGHAVAN, V. G. S. Foam-mat freeze drying of egg white and mathematical modeling. Part I: optimization of egg white foam stability. **Drying Technology**, v.26, n.4, p.508-512, 2008.
- NAGAI, T.; INOUE, R.; INOUE, H.; SUZUKI, N. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. **Food Chemistry**, v. 80, p. 29-33, 2003.

- NAGY, E. PAPAY, V., LITKEGI, G.; DINYA, Z. Investigation of the chemical constituents, particularly the flavonoid components, of propolis and *Populi gemma* by GC/MS methods **Org. Chem**, v. 23, p. 223-232, 1986.
- NIKI, E. Antioxidant Activity: are we measuring it correctly? **Nutrition**, v. 18, p. 524-525, 2002.
- PARK, K. J.; ANTONIO, G. C.; OLIVEIRA, R. A.; PERK, K. J. B. **Conceitos de processo e equipamentos de secagem**. Campinas: FEAGRI. 2007. 200p.
- PARK, Y. K.; KOO, M. H. Investigation of Flavonoid Aglycones in Propolis Collected by Two Different Varieties of Bees in the Same Regions. **Bioci. Biotech. Biochem.**, v. 61, n. 2, p. 367-369, 1997.
- PARK, Y. K.; KOO, M. H.; SATO, H. H.; CONTADO, J. L. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. **Arquivos de biologia e tecnologia**, v. 38, p. 1253-1259, 1995.
- PARK, Y. K.; IKEGAKI, M. Preparation of water and ethanolic extracts of propolis and evaluation of the preparations. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v.62, n.11, p.2230-2232, 1998.
- PARK, Y.K.; KOO, H.; ABREU, J.A.S.; IKEGAKI, M.; CURY, J.A.; ROSALEN, P.L. Antimicrobial Activity of Propolis on oral Microorganisms. **Current Microbiology**, v. 36, p. 24-38, 1998.
- PARK, Y.K.; KOO, H.; IKEGARI, M.; CONTADO, J.L. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. **Arquivos de biologia e tecnologia**, v. 40, p. 97-106, 1997.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Classificação das própolis brasileira através de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Mensagem Doce**, n. 58, p. 2-7, 2000.
- PASCUAL, C.; GONZALEZ, R.; TORRICELLA, R. G. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 41, p. 9-13, 1994.
- PAULINO, N.; CARVALHO, K. S.; MARCUCCI, M. C.; SCREMIN, A.; CALIXTO, J. B. Avaliação da Atividade Antiinflamatória da Própolis P1 em Hepatócitos de Rato. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 15., 2001(FESBE 2001). Caxambú, MG. **Anais...** São Paulo, SP: Federação de Sociedades de Biologia Experimental, v. 1, p. 310-310, 2001.
- PAVANELLI, D. M.; JÚNIOR, J. B. G.; BANDEIRA, M. C. E. Avaliação Qualitativa de Extratos de Própolis do Cerrado Sulmatogrossense. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 30., 2007. Águas de Lindóia, SP, 31 de maio a 03 de junho de 2007. Disponível em: <<https://sec.sbq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T0735-1.pdf>>. Acesso em: 07 jan. 2008.
- PEREIRA, A. S.; BICALHO, B.; NETO, F. R. A. Comparison of propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula*. **Apidologie**, n.34, p.291-298, 2003.
- PEREIRA, A. S.; SEIXAS; F. R. M. S.; NETO; F. R. A. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, p. 321-326, 2002.

PEREIRA, A.S.; NORSELL, M.; CARDOSO, J.N.; NETO, F.R.A. Rapid screening of polar compounds in Brazilian propolis by high-temperature high-resolution gas chromatography mass spectrometry. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 5226 -5230, 2000.

PRATT, D.E.; BIRAC, P.M. Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. **J. Food Sci.**, v.44, p.1720-1722, 1979.

PRATT, D.E.; WATTS, B.M. The antioxidant activity of vegetable extracts. I: Flavone aglycones. **J. Food. Sci.**, v.29, p.27-31, 1964.

RAJKUMAR, P.; KAILAPPAN, R.; VISWANATHAN, R.; RAGHAVAN, G. S. V. Drying characteristics of foamed alphonso mango pulp in a continuous type foam mat dryer. **Journal of Food Engineering**, v.79, p.1452-1459, 2007.

SANKAT, C.K.; CASTAIGNE, F. Foaming and drying behavior of ripe bananas. **LWT Food Science and Technology**, v.37, n.1, p. 517-525, 2003.

SFORCIN, J. L.; FERNANDES JR, A.; LOPES, C. A. M.; BANKOVA, V.; FUNARI, S. R. C. Seasonal effect on brazilian propolis antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p. 243-249, 2000.

SILVA, R. A.; RODRIGUES, A. E.; RIBEIRO, M .C. M.; CUSTÓDIO, A. R.; ANDRADE, N. E. D.; PEREIRA, W. E. Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p.1842-1848, 2006.

SILVA, T. V.; RESENDE, E. D.; VIANA, A. P. Influência dos estádios de maturação na qualidade do suco do maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 3, p. 472-475, 2005.

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

SOUZA, M. C. C.; BENASSI, M. T.; MENEGHEL, R. F. A.; SILVA, S. S. F. Stability of unpasteurized and refrigerated orange juice. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 3, p. 391-397, 2004.

THUWAPANICHAYANAN, R.; PRACHAYAWARAKORN, S.; SOPONRONNARIT, S. drying characteristics and quality of banana foam mat. **Journal of Food Engineering**, v.86, p.573-583, 2008.

VELIKOVA, M.; BANKOVA, V.; MARCUCCI, M. C.; TSVETKOVA, I.; KUJUMGIEV, A. Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian meliponinae. **Zeitschrift Fur Naturforschung C**, v. 55, p. 785-789, 2000.

VERNON-CARTER, E. J. V.; PAREDES, G. E.; BERISTAIN, C. I.; TEHUITZIL, H. R.. Effect of foaming agents on the stability, rheological properties, drying kinetics and flavor retention of tamarind foam-mats. **Food Research International**, n.34, p.587-598, 2001.

VYNOGRAD, N.; VYNOGRAD, I.; SOSNOWSKI, Z.A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). **Phytomedicine**, v. 7, p. 1-6, 2000.

WALKER, P.; CRANE, E. Constituents of Propolis. **Apidologie**, v. 18, p. 327-334, 1987.

WANG, S. H.; FERNANDES, S. M.; CABRAL, L. C.; ARAUJO, F. B. Absorção de gordura, solubilidade e propriedades espumantes dos extratos hidrossolúveis desidratados de arroz e soja. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.20, n.2, maio/ago. 2000.

WOISKY, R.G.; SALATINO A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J. Apicult. Res.*, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

YAMAUCHI, R.; KATO, K.; OIDA, S.; KANAEDA, J.; UENO, Y. Benzyl caffeate an antioxidative compound isolated from propolis. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v. 56, p. 1321-1322, 1992.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Análises de resíduo.

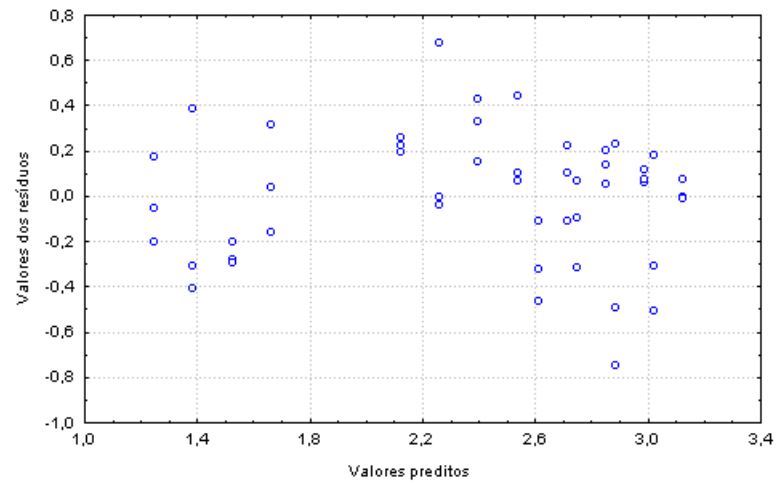


Figura 1a. Análise de resíduos - valores dos resíduos versus valores preditos para Rendimento de extrato seco.

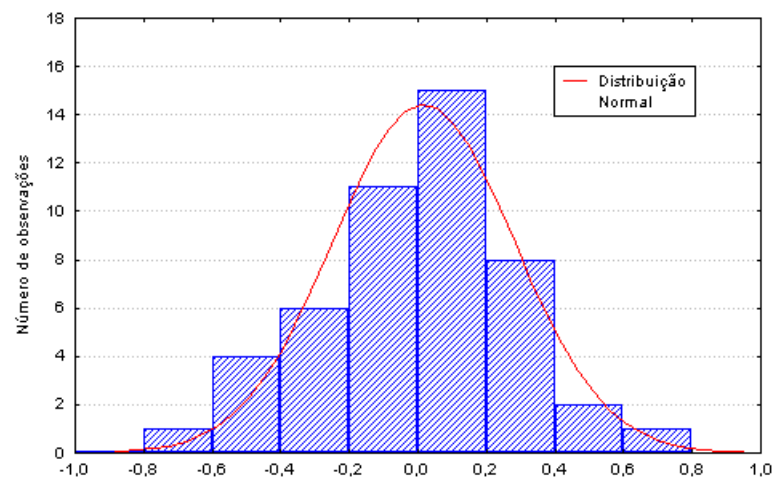


Figura 1b. Análise de resíduos - Frequência de distribuição dos resíduos para Rendimento de extrato seco.

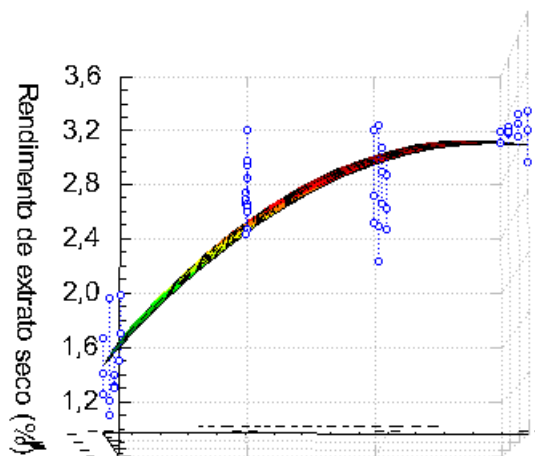


Figura 1c. Rendimento de extrato seco em função do tempo e temperatura de maceração.

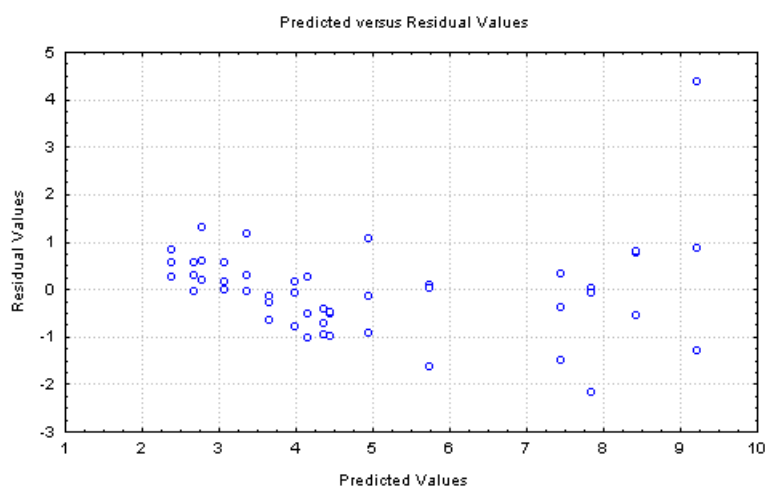


Figura 2a. Análise de resíduos - valores dos resíduos versus valores preditos para Atividade Antioxidante.

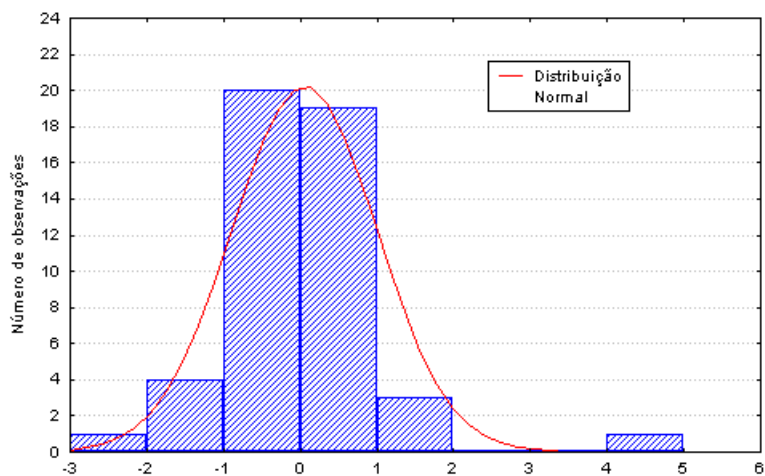


Figura 2b. Análise de resíduos - Frequência de distribuição dos resíduos para Atividade antioxidante.

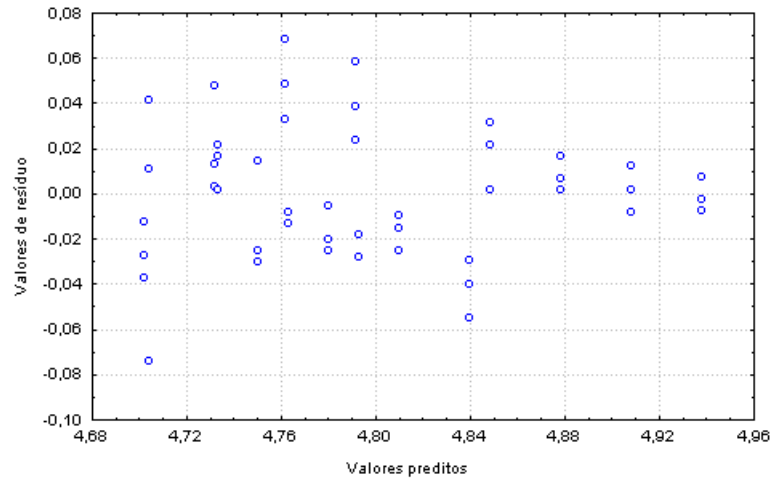


Figura 3a. Análise de resíduos - valores dos resíduos versus valores preditos para pH.

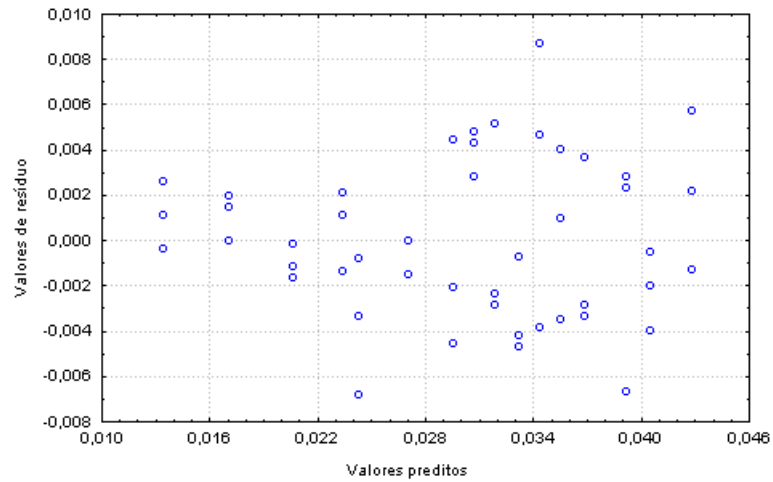


Figura 4a. Análise de resíduos - valores dos resíduos versus valores preditos para ATT.

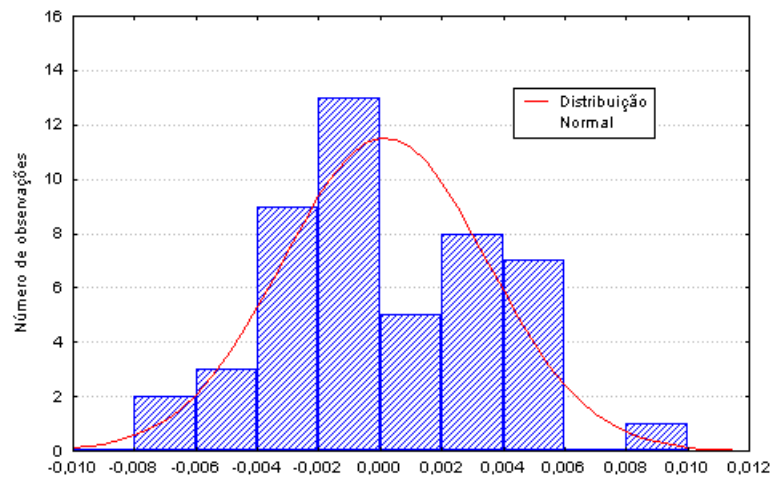


Figura 4b. Análise de resíduos - Frequência de distribuição dos resíduos para ATT

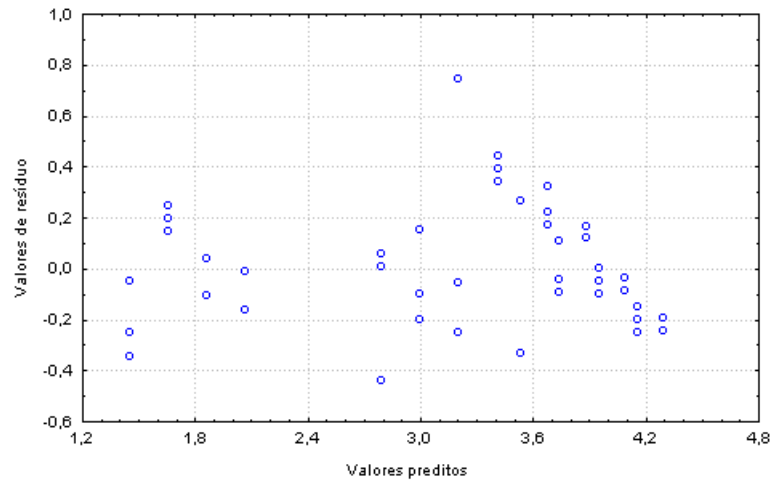


Figura 5a. Análise de resíduos - valores dos resíduos versus valores preditos para TSS.

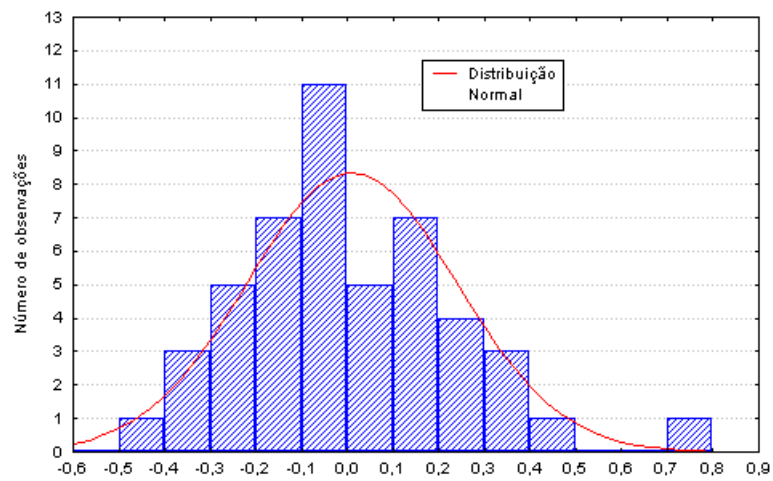


Figura 5b. Análise de resíduos - Frequência de distribuição dos resíduos para TSS

APÊNDICE B - Análises de regressão.

Análise de regressão entre densidade da espuma e teor de aditivos

Programa: Sigmaplot

[Equations]: $y=y_0+(a/x)+(b/x^2)$

R = 0,98769444 Rsqr = 0,97554030 Adj Rsqr = 0,97146369

	Coefficient	Std. Error	t	P
y_0	0,6158	0,0441	13,9697	<0,0001
a	-1,2762	0,1900	-6,7161	<0,0001
b	1,5133	0,1527	9,9118	<0,0001

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS	F	P
Regression 2	0,5414	0,2707	239,3015	<0,0001	
Residual	12	0,0136	0,0011		
Total	14	0,5550	0,0396		

Análise de Regressão entre Estabilidade da espuma e teor de aditivos

Programa: Sigmaplot

[Equations] $y=\exp(a+(b/x^2))$

R = 0,98416718 Rsqr = 0,96858505 Adj Rsqr = 0,96616851

	Coefficient	Std. Error	t	P
a	4,6440	0,0139	333,5451	<0,0001
b	-0,7930	0,0513	-15,4533	<0,0001

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS	F	P
Regression 1	5955,0919	5955,0919	400,8157	<0,0001	
Residual	13	193,1466	14,8574		
Total	14	6148,2386	439,1599		

Análise de Regressão entre RU, Tempo de secagem e % de Aditivos

Nonlinear Regression

[Variables]

x = % Aditivo

y = Tempo de secagem

z = Razão de Umidade

[Equations]

$f=y0+a*x+b*y+c*x^2+d*y^2$

R = 0,99082439 Rsqr = 0,98173298 Adj Rsqr = 0,97937595

	Coefficient	Std. Error	t	P
y0	0,7934	0,0934	8,4923	<0,0001
a	0,0968	0,0564	1,7169	0,0960
b	-0,0206	0,0008	-27,1793	<0,0001
c	-0,0137	0,0080	-1,7201	0,0954
d	0,0001	0,0000	17,8661	<0,0001

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS	F	P
Regression	4	3,8282	0,9570	416,5119	<0,0001
Residual	31	0,0712	0,0023		
Total	35	3,8994	0,1114		

Balanço de massas

Extrato = 97,8 % água + 2,2 % ms. Em 98 g de extrato há 95,844 g de água e 2,156 g ms.

Considerando que aditivo não contém água fica: 2 g de aditivo = 2,0 g ms

Umidade da Espuma = $ma*100/mt = 95,844*100/(95,844+2,156 + 2,0) = 95,844\%Ub.u.$ e 4,156 %ms.

Em 100g de espuma com Umidade final (Uf) de 8,1%Ub.u., há A% aditivos

$Uf = maf*100/(maf+ms)$, então $8,1 = maf*100/(maf+4,156)$. Então $maf = 0,37$. então $mtf=0,37+4,2=4,52$.

% de Aditivo = $2,0/4,52=44,2\%$

ANEXO

ANEXO A - Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis.

1. Alcance

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

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

2. Descrição

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

2.2. Classificação:

2.2.1 Quanto ao teor de flavonóides:

2.2.1.1. A própolis será classificada em:

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

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

2.3. Designação (Denominação de Venda): Própolis.

3. Referências:

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

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

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

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

- BRASIL. Código de Defesa do Consumidor. Lei nº 8.078, de 11 de Setembro de 1990.

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

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

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

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

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

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

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

- BRASIL. RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952.

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

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

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

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

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

4. Composição e Requisitos

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

4.2. Características Sensoriais:

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

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

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

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

4.2.5. Granulometria: heterogênea.

4.3. Requisitos físico-químicos:

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

4.3.2. Cinzas: máximo de 5% (m/m);

4.3.3. Cera: máximo de 25 % (m/m);

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

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

4.3.6. Atividade de oxidação: máximo de 22 segundos;

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

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

4.4. Provas Qualitativas:

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

4.4.2. Acetato de chumbo - Positivo;

4.4.3. Hidróxido de Sódio - Positivo.

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

5. Aditivos

Não se autoriza.

6. Contaminantes

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

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

7. Higiene

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

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

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

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

8. Pesos e Medidas

Aplica-se o Regulamento específico.

9. Rotulagem

Aplica-se o Regulamento específico.

10. Métodos de Análise

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

Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produto de Origem Animal e seus Ingredientes.

Portaria nº 001/81 - 07/10/1981. Ministério da Agricultura e do Abastecimento.

Metodologias validadas pelo Ministério da Agricultura.

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

11. Amostragem

Seguem-se os procedimentos recomendados na norma vigente.