



IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS POR ESI-MS DA PRÓPOLIS VERDE DO IFSULDEMINAS - INCONFIDENTES

Daniele de F. F. de LIMA¹; Wallace R. CORRÊA²; Ildenize B. S. CUNHA³

RESUMO

A própolis verde possui composição química bastante heterogênea, apresentando substâncias bioativas consideradas como marcadoras. O conhecimento dos compostos presentes na própolis é muito importante na determinação de suas atividades biológicas; este trabalho tem por objetivo identificar os componentes químicos presentes na própolis verde do IFSULDEMINAS – Inconfidentes MG. As amostras de própolis verde foram coletadas e fornecidas pelo IFSULDEMINAS. As análises cromatográficas das soluções etanólicas dos extratos de própolis foram realizadas em um cromatógrafo UPLC Acquity acoplado com um espectrômetro de massa TQD Acquity com uma fonte de ESI. A Inserção direta ESI (-) - MS impressões digitais das amostras de extrato de própolis verde identificou marcadores de íons característicos de própolis verde brasileira. A própolis do IFSULDEMINAS apresentou compostos que corroboram com os marcadores encontrados na literatura, típicos das amostras brasileiras.

Palavras-chave: Composição; Química; Apicultura; Cromatografia.

1. INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância resinosa, elaborada através de materiais resultantes de processos botânicos advindos de diversas partes da planta, além de secreções das glândulas da cabeça das abelhas (BANKOVA, 2005). Segundo Castro *et al.* (2011), a composição química da própolis é de extrema complexidade, sendo identificados mais de trezentos componentes presentes.

A composição química da própolis verde tem interferência direta nas propriedades biológicas apresentadas por seu extrato; faz-se necessário então a identificação e estudo de seus componentes químicos para o melhor aproveitamento das ações medicinais resultantes de sua utilização. Desta forma, este trabalho tem por objetivo identificar os componentes químicos presentes na própolis verde do IFSULDEMINAS – Inconfidentes MG.

2. MATERIAL E MÉTODOS

1 IFSULDEMINAS – danieleeag@gmail.com

2 IFSULDEMINAS – wallace.correa@ifsuldeminas.edu.br

3 UNICAMP - cunhaibs@yahoo.com.br



2.1 Coleta e processamento das amostras

As amostras de própolis verde foram coletadas em 2014 e fornecidas pelo IFSULDEMINAS, no município de Inconfidentes (Minas Gerais, Brasil). Cento e cinquenta gramas de própolis foram triturados e extraiu-se em 1000 ml de etanol PA, à temperatura ambiente. O solvente foi retirado com um evaporador rotativo, obtendo-se o extrato bruto da própolis.

2.2 UPLC-ESI (-) – IMPRESSÕES DIGITAIS - MS / MS e ESI (-)

As análises cromatográficas das soluções etanólicas dos extratos de própolis (1 mg/mL) foram realizadas num cromatógrafo UPLC Acquity acoplado com um espectrômetro de massa TQD Acquity (Waters Micromass-Manchester, Inglaterra), com uma fonte de ESI. Utilizou-se uma coluna C18 Waters Acquity BEH (2,1 mm x 50 mm x 1,7 M de tamanho de partícula). O solvente A foi de água mili-Q purificada com ácido fórmico a 0,1% e o solvente B foi acetonitrilo. A taxa de fluxo foi de 0,2 mL/min e, 5 µL das amostras foram injetadas com um gradiente linear a partir de 5% de acetonitrilo, aumentando até 100% de metanol em nove minutos, realizada até 12 minutos e, em seguida, voltando às condições iniciais, seguido por re-equilíbrio da coluna.

ESI ionização em modo de íon negativo foi utilizado sob as seguintes condições: -3,50 capilar kV, Cone de -30 V, fonte de temperatura de 150°C a dessolvatação, temperatura 350°C e energia de colisão 25V, a aquisição de dados foi entre 100 e 800 m/z. Os compostos foram identificados por comparação dos seus espectros de fragmentação ESI-MS/MS com os dados da literatura (MARCUCCI *et al.*, 2008; SAWAYA *et al.*, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A inserção direta ESI (-) - MS impressões digitais das amostras de extrato de própolis verde identificou certos marcadores de íons característicos de própolis verde brasileira na amostra, de acordo com os dados publicados (MARCUCCI *et al.*, 2008; SAWAYA *et al.*, 2011) (Figura 1).



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

ISSN 2319-0124

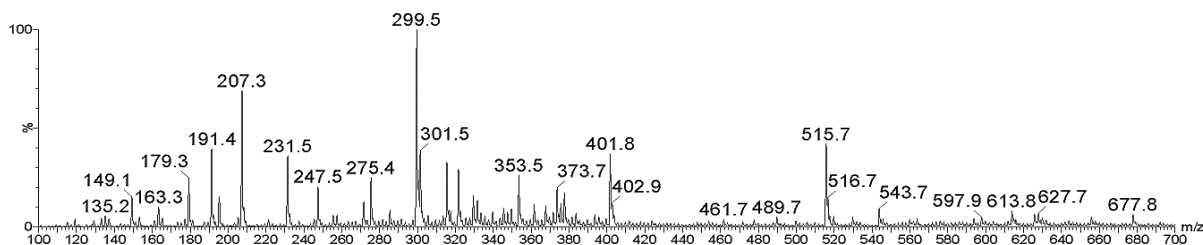


Figura 1 - ESI (-) - MS impressão digital do extrato etanólico de própolis verde.

A inserção direta da espectrometria de massa de impressões digitais (ESI (-) - MS) (SAWAYA; CUNHA; MARCUCCI, 2011) tem provado ser um método rápido e confiável para a caracterização de própolis, todavia a separação cromatográfica foi usada para evitar erros de identificação. A própolis é uma mistura complexa, de modo que a separação e identificação dos compostos individuais é uma tarefa difícil, incluindo isômeros ou análogos (SHI *et al.*, 2012).

A análise quantitativa do extrato por UPLC mostrou um perfil cromatograma típico de extrato de própolis e permitiu a confirmação de 13 substâncias fenólicas (Tabela 1): p-coumaric acid; caffeic acid; 3-[4-hydroxy-3-(oxo-butenyl)-phenyl acrylic] acid; 3,4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid; 3,4-diphenyl-4-hydroxycinnamic acid; Kaempferide; dihydrokaempferid; 3-hydroxy-2,2-dimethyl-8-prenyl-2H-1-benzopyran-6-propenoic acid; 3-caffeoylquinic acid; 5-caffeoylquinic acid; 15-acetoxy-cupressic acid; 4,5-dicaffeoylquinnic acid; 3,4-dicaffeoylquinic acid, tais substâncias foram confirmadas com suas estruturas químicas a partir dos fragmentos m/z resultantes e do tempo de retenção em comparação com compostos padrão.

Tabela 1 - Caracterização de compostos presentes no extrato etanólico de própolis verde

[M-H] m/z	Nome	Tempo de retenção	Principais fragmentos m/z
163	p-coumaric acid	2.58	163 (10), 119 (100), 93 (15)
179	caffeic acid	2.07	179 (10), 135 (100) 107 (10)
231	3-[4-hydroxy-3-(oxo-butenyl)-phenyl acrylic] acid	4.82	231 (10), 187 (50), 132 (100),
247	3,4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid	3.52	247 (20), 203 (100), 185 (10), 148 (55)
299	3,4-diphenyl-4-hydroxycinnamic acid	5.30	299 (10), 284 (5), 255 (98), 244 (10), 200 (100), 145 (10)
299	Kaempferide	6.34	299 (10), 284 (100), 255 (30), 200 (25), 164 (10), 151 (20), 107 (10)



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

ISSN 2319-0124

301	dihydrokaempferid	4.24	301 (100), 205 (10), 185 (70), 131 (70)
315	3-hydroxy-2,2-dimethyl-8-prenyl-2H-1-benzopyran-6-propenoic acid	5.73	315 (15), 297 (10), 285 (10), 271 (20), 253 (100), 241 (95), 198 (50), 186 (10)
353	3-caffeoylquinic acid	1.58	353 (10), 191 (100), 179 (65), 173 (40), 135 (45)
353	5-caffeoylquinic acid	1.93	353 (10), 191 (100), 179 (65), 173 (40), 135 (45)
361	15-acetoxy-cupressic acid	3.79	361 (100), 301 (30)
515	4,5-dicaffeoylquinnic acid	2.97	515 (10), 353 (100), 191 (52), 179 (75), 173 (75), 135 (10)
515	3,4-dicaffeoylquinic acid	3.00	515 (10), 353 (100), 191 (52), 179 (75), 173 (75), 135 (10)

5. CONCLUSÕES

As análises permitiram identificar 13 compostos fenólicos na própolis verde do IFSULDEMINAS; esta apresenta compostos que corroboram com os marcadores encontrados na literatura, mostrando-se em conformidade com as características da própolis verde brasileira.

REFERÊNCIAS

BANKOVA, V. Recent trends and important developments in propolis research. **Ecam**, Sofia, v. 2, n. 1, p.29-32, jan. 2005.

CASTRO, S. L. de *et al.* Propolis: Biological and Pharmacological Activities. **Arbs Ann Rev Biomed Sci**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 1, p.49-83, 2011.

MARCUCCI, M. C. *et al.* HPLC and ESI-MS typification: New approaches for natural therapy with Brazilian propolis. In: Nada Orsolic, (Org.) **Scientific Evidence of the Use of Propolis in Ethnomedicine**, Kerala, India: Transworld Research Network, 2008, 33–54.

SAWAYA, A. C. H. F.; CUNHA, I. B. da S.; MARCUCCI, M. C.. Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. **Chemistry Central Journal**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.1-10, 1 jun. 2011.

SHI, H. *et al.* Identification and Quantification of Phytochemical Composition and Anti-inflammatory and Radical Scavenging Properties of Methanolic Extracts of Chinese Propolis. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 60, n. 50, p.12403-12410, 19 dez. 2012.