



Revista Eletrônica Multidisciplinar Pindorama
do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia – IFBA
Nº 01 – Ano I – Agosto/2010 – www.revistapindorama.ifba.edu.br

Implantação das análises físico-químicas da própolis no laboratório da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola

Alvanice Silva Lins

Farmacêutica

Unidade de Análises de Produtos das Abelhas (APA)
Laboratório de Abelhas (LABE)
Central de laboratórios da agropecuária (CLA)
Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA)
Salvador, Bahia, Brasil.
Alvanicelins@gmail.com

Ana Paula Pereira da Silva

Farmacêutica

Faculdade de farmácia, Estácio/ (Centro Universitário da Bahia) FIB
Salvador, Bahia, Brasil.

Prof. Dr. Marcus Luciano Souza de Ferreira Bandeira

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia – IFBA
Campus Porto Seguro, Bahia, Brasil.
marcusbandeira@ifba.edu.br

Prof^a. Dr^a. Marina Siqueira de Castro

Dra. Ecologia, Laboratório de Abelhas (LABE)

Central de Laboratórios da Agropecuária, Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA). Salvador, BA.
Departamento de Ciências Biológicas (DCBIO), Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Feira de Santana, BA.
marina.castro@ebda.ba.gov.br

RESUMO

A própolis é uma mistura complexa, resinosa e balsâmica coletada pelas abelhas nos ramos, flores, pólen, brotos e exsudados de árvores. Apresenta muitas propriedades biológicas como antifúngica, antioxidante, antiviral, antimicrobiana e anticariogênica, sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial. O presente estudo objetivou descrever detalhadamente a implantação de metodologias de análise físico-química da própolis, em conformidade com a norma NBR ISO/IEC

17025:2005. Para implantação das análises físico-químicas da própolis em laboratório é preciso ter respaldo da legislação, que institui medidas e normas as quais norteiam as questões técnicas e de qualidade. Para isto, é necessário utilizar metodologias preconizadas pelo MAPA (Instrução Normativa n.º 3/2001) e seguir as orientações da ANVISA (Resolução-RDC nº 132/2003). A metodologia utilizada foi pesquisada em base eletrônica, revistas, teses, livros, dissertações, periódicos e trabalho experimental realizado na Unidade laboratorial APA da EBDA. A amostra da própolis analisada foi proveniente de Pojuca-Bahia. Obteve-se como resultado a criação de POP's para sete determinações, criação de controle interno de qualidade, teste e validação dos métodos cinzas e perda por dessecação, bem como obtenção da expressão de resultados para composição do laudo de análises da EBDA para estas duas análises, além de produção de material bibliográfico para atender a necessidade de publicação sobre o tema. Portanto, espera-se que a implantação da metodologia de análises físico-químicas em própolis na EBDA contribua com a disseminação desta técnica e possibilite a implementação de ações que venham a garantir a melhoria da qualidade da assistência à saúde e segurança alimentar.

Palavras-chave: Tecnologia analítica. Implantação de metodologia. Própolis. Sistema de Qualidade.

INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se entre os líderes mundiais na produção e exportação de própolis, especialmente devido ao seu clima tropical e meio de reprodução propício para as abelhas. A própolis vem se destacando pelo seu alto valor agregado (o quilograma do produto pode ser comercializado por até R\$450,00 (GOMES, 2009) pela grande variedade de atividades biológicas (como atividade antioxidante, antiinflamatória, hipotensiva, anestésica, cicatrizante, antimicrobiana, antifúngica, antiviral, antiprotozoária, antitripanossomal, anticarcinogênica e anticariogênica (SANTOS, 2008; CASTRO; CURY; ROSALEN, 2007, p. 1512-1516)). Destaca-se também pela probabilidade de aplicação nas indústrias farmacêutica e alimentícia, como alimento funcional (CASTRO;CURY;ROSALEN, 2007, p. 1512-1516).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) “a própolis é um produto natural, de características físicas resinosas e composição variável, coletada de várias espécies vegetais e que sofre adição de secreções da abelha, sendo classificada como opoterápico” (BRASIL, 2005a). Denomina-se opoterápicos os medicamentos específicos adquiridos por meio de órgãos, glândulas, tecidos e secreções animais(BRASIL, 2007).

As abelhas utilizam a própolis para recobrir a parede da colméia, avigorar os favos, calafetar as fissuras, defender a colônia (NOGUEIRA NETO, 1997) e embalsamar animais (REIS *et al*, 2000, p. 43-52). Este embalsamamento serve para evitar o processo de putrefação, devido à atividade antimicrobiana da própolis (REIS *et al*, 2000, p. 43-52).

Existem vários tipos de própolis, dentre elas a própolis marrom com elevada propriedade antioxidante (NASCIMENTO *et al*, 2007, p. 1-4), a verde com propriedades antiinflamatória, antibiótica e combate a candidíase bucal (BRASIL, 2005b) e a própolis vermelha que possui propriedades antimicrobiana e antioxidante (SANTOS, 2008; BRASIL, 2005b; ANDRÉA; COSTA; CLARTON, 2005, p. 19-21). A própolis vermelha brasileira é encontrada nas Regiões Norte e Nordeste (LUSTOSA *et al*, 2008, p. 447-454).

A diversidade da composição química da própolis, tais como flavonóides, ácidos aromáticos, ácidos graxos, hidroxiácido, terpenóides, derivado do ácido cinâmico, ácidos fenólicos, ésteres, aldeídos fenólicos, álcoois, cetonas dentre outros (extrato de própolis) depende da biodiversidade de cada região (CASTRO;CURY;ROSALEN, 2007, p. 1512-1516).

Atualmente a própolis é disponível em várias formas farmacêuticas como cápsulas, extratos, enxaguatório bucal, na forma de pó, entre outras (LUSTOSA *et al*, 2008, p. 447-454).

Devido a grande utilização da própolis, especialmente como medicamento, é necessário maior controle da sua qualidade e classificação. O apoio laboratorial para o diagnóstico e classificação da própolis é de suma importância porque visa o maior controle de sua qualidade. O Estado da Bahia não possui laboratório para realizar ensaios em amostras de própolis e garantir a sua qualidade e o desenvolvimento de pesquisas. Com a implantação das metodologias propostas na EBDA, esta ficará habilitada a ofertar serviços laboratoriais em análise de própolis com resultados confiáveis e adequados à qualidade almejada, ou seja, a EBDA vai poder demonstrar que tem condições de realizar de forma apropriada os métodos normalizados dentro das condições específicas existentes nas suas instalações quando implantá-los.

Por conseguinte, a implantação das análises de própolis justifica-se devido à falta de laboratórios, que realizem estas análises para atender à demanda da apicultura e meliponicultura baiana, garantindo, desta forma, a segurança alimentar

e da saúde do consumidor e agregação de valores ao produto, bem como a elevação da competitividade e sustentabilidade dos produtores do estado.

A Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), empresa pública, ligada a Secretaria da Agricultura da Bahia, sediada em Salvador-Bahia, está voltada para pesquisa, assistência técnica, e desenvolvimento da agricultura familiar. A Central de Laboratórios da Agropecuária CLA, pertencente à EBDA é uma edificação com dois pavimentos, onde funciona um conjunto de laboratórios de análises e diagnósticos em sanidade animal, sanidade vegetal, qualidade de alimentos, solos com Sistema da Qualidade (gerência da qualidade). Está incluído na referida Central o Laboratório de Abelhas (LABE), que possui inserido dentre outras, a unidade denominada APA (Análise de Produtos de Abelhas), local onde serão implantadas as metodologias de análise físico-química da própolis. A unidade APA possui Sistema de Qualidade ABNT NBR ISO/ IEC 17025:2005 para mel, e a inclusão de mais um produto para análise (própolis) requer estudo da legislação pertinente e implementação de procedimentos operacionais padrão, bem como levantamento dos equipamentos e reagentes necessários para testes e validação dos ensaios.

O objetivo do presente estudo é descrever detalhadamente a implantação de metodologias de análise físico-química de própolis, em conformidade com a norma de qualidade NBR ISO/IEC 17025:2005 para habilitar o laboratório da EBDA a realizar serviços de diagnóstico, classificação e pesquisa com resultados fidedignos e com qualidade, garantindo a segurança e saúde do consumidor.

1. PRÓPOLIS: PANORAMA ECONÔMICO E DA PRODUTIVIDADE

O Brasil é considerado o segundo maior produtor mundial da própolis, ficando a China em primeiro lugar (LUSTOSA *et al*, 2008, p. 447-454). Os apicultores brasileiros produzem em torno de 100 toneladas/ano de própolis, que em sua maior parte é direcionada para o mercado exterior, onde alcança elevado valor (INOUE *et al*, 2007, p. 65-69). A valorização da própolis brasileira é decorrente da presença de características que conferem maior qualidade, como maior quantidade de substâncias solúveis em água, atribuindo mais efeitos terapêuticos, segurança e facilidade de absorção pelo corpo humano (SUZUKI, 2000, p. 10-16).

Tem-se observado aumento do nível de informação do consumidor brasileiro e estrangeiro, tornando-o mais exigente no que se refere à qualidade dos produtos alimentícios e farmacêuticos, incluindo nesta conjuntura a sustentabilidade social e ambiental agregada às cadeias produtivas, além das conseqüências lesivas à saúde pública. Como é necessário fazer a diferenciação de produto para possibilitar maior lucratividade acompanhada da maior geração de emprego e renda para apicultura e meliponicultura familiar, necessita-se desta forma adequar os processos de produção aos requisitos do mercado, sendo isto uma estratégia competitiva e de sustentabilidade dos sistemas de produção apícola.

Para implantação das análises físico-químicas de própolis em laboratório é preciso ter respaldo da legislação vigente, que institui medidas e normas as quais norteiam as questões técnicas e de qualidade.

2. LEGISLAÇÃO E NORMAS PARA IMPLANTAÇÃO DE DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DA PRÓPOLIS

Os consumidores usam a própolis como suplemento alimentar e como medicamento (MALASPINA; PALMA, 2000; PARK;IKEGARI; ALENCAR, 2000, P. 2-6). Por ser utilizada como alimento o controle da qualidade da própolis está sob os auspícios do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Em razão da necessidade de padronização e processamento de produtos visando assegurar condições igualitárias e total transparência na elaboração e comercialização do produto o MAPA publicou a Instrução Normativa n.º 3, de 19 de janeiro de 2001, do Departamento de Inspeção de produtos de Origem Animal. Nos anexos VI e VII desta Instrução é aprovado o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade da própolis e do extrato de própolis, com a finalidade de estabelecer a identidade e os requisitos mínimos de qualidade para comercialização no âmbito nacional ou internacional (BRASIL, 2003a).

Os produtos que têm como princípio ativo a própolis e recomendações terapêuticas possuem os requisitos para registro como medicamentos específicos, compreendido na classe opoterápica, segundo a Resolução-RDC nº 132, de 29 de maio de 2003 (BRASIL, 2003b). A Comprovação de eficácia e segurança, além dos requisitos mínimos de qualidade são norteados pela Câmara Técnica de

Medicamentos Fitoterápicos (CATEF), por meio da nota técnica sobre o Registro de Produtos Contendo Própolis (BRASIL, 2005a; LUSTOSA *et al*, 2008, p. 447-454).

Os parâmetros de análise físico-químicos, preconizados pelo MAPA para controle de qualidade, classificação da própolis e rotulagem nutricional obrigatória (ALMEIDA-MURADIAN, 2008, p. 14-17; BRASIL, 2003a) estão apresentadas na tabela 1.

Critério de Qualidade (parâmetros)	Legislação Brasileira /MAPA
Cera (máximo)	25% (m/m)
Compostos flavonóides (mínimo)	0,5% (m/m)
Compostos fenólicos (mínimo)	05%
Atividade de oxidação (máximo)	22 segundos
Perda por dessecação (máximo)	8% (m/m)
Cinzas (máximo)	5% (m/m)
Massa mecânica (máximo)	40% (m/m)
Solúveis em Etanol (mínimo)	35% (m/m)
Acetato de Chumbo	Positivo
Hidróxido de Sódio	Positivo
Espectro de absorção de radiação UV/VIS	Picos característicos entre 200 e 400nm

Fonte: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2003.

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos e limites para avaliação de qualidade da própolis estabelecido pela legislação brasileira.

A Norma para gestão de qualidade preconizada para laboratório de ensaios pelo MAPA, RBME (Rede Baiana de Metrologia), INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) e outros órgãos governamentais é a ABNT NBR ISO/ IEC 17025:2005 (Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração). A NBR 17025 estabelece os requisitos técnicos (garantem a competência técnica) e gerenciais (garantem a continuidade da competência técnica) para avaliar a capacidade dos laboratórios em realizar ensaios e calibrações com intuito de obter resultados válidos tecnicamente (CARVALHO, 2009). A norma é utilizada no desenvolvimento do Sistema de Gestão da Qualidade e na confirmação ou reconhecimento da competência (certificação) de laboratórios, pois os requisitos gerenciais e técnicos controlam e garantem que todas as etapas do trabalho sejam executadas com precisão e exatidão (CARVALHO, 2009; LABSOFT, 2009).

Existem várias etapas para implantação de análise físico-química da própolis e adequação a Norma internacional 17025:2005, mas como a unidade APA possui sistema de qualidade, foi preciso apenas a realização de desenvolvimento dos requisitos técnicos como: pesquisa detalhada dos métodos normatizados, pesquisa de equipamentos e reagentes para aquisição, criação dos procedimentos operacionais padrão (POP's) para a própolis, fichas de registro, teste e validação dos métodos.

A validação de métodos é a demonstração, por meio de evidências objetivas, de que os requisitos para um determinado emprego ou uso específico desejado foram atendidos (INMETRO, 2003). Para validar um método é necessário primeiro especificar o mensurando, em seguida identificar as fontes de incerteza, quantificar a incerteza, calcular a incerteza padronizada combinada e calcular a incerteza expandida (GUIA EURACHEM/CITAC, 2002).

3. METODOLOGIA, RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os critérios de inclusão de pesquisa foram: amostras coletadas na Bahia, quantidade mínima por lote amostral de 60 g. Foram excluídas as amostras que não atenderam aos critérios de inclusão. Os procedimentos operacionais padrão foram desenvolvidos dentro dos protótipos existentes no APA, em conformidade com o Sistema de Qualidade ABNT NBR ISO/ IEC 17025:2005. O ensaio perda por dessecação seguiu a metodologia descrita na Farmacopéia brasileira com modificação.

A amostra utilizada para as validações e estudos foi de própolis marrom de um mesmo lote, coletada da colméia da abelha sem ferrão *Frieseomelitta varia*, por apicultor baiano em apiário localizado no município de Pojuca, no Estado da Bahia. Utilizou-se 80 g de amostra para a execução das análises e as amostras foram previamente pulverizadas, ainda geladas, no almofariz para homogeneização.

Os trabalhos experimentais foram realizados na unidade laboratorial APA da EBDA e efetuados segundo as recomendações do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Para a implantação de metodologias é necessário seguir os seguintes passos (BANDEIRA, 2009):

- Pesquisa bibliográfica da legislação e das metodologias normalizadas, além do conhecimento da norma de qualidade 17025;
- Elaboração de Procedimentos Operacionais Padrão (POP's) para e execução na rotina;
- Aquisição de equipamentos e reagentes;
- Testes preliminares em laboratório das metodologias;
- Estabelecimento de controles de qualidade;
- Validação dos métodos analíticos;
- Participar de programas de proficiência e/ou ensaios interlaboratoriais e utilização materiais de referência (MR) ou materiais de referência certificados (MRC);
- Acreditação/reconhecimento junto a organismos federais, estaduais e/ou regionais.

Foram elaborados procedimentos operacionais padrão para as determinações: teor de cinzas, atividade antioxidante, perda por dessecação, teor de flavanóides totais, teor de fenóis totais, teor de cera e solúveis em etanol. Os testes e as validações foram realizados em dois parâmetros (perda por dessecação e teor de cinzas). Os equipamentos utilizados para os testes e validações dos métodos foram calibrados por empresas credenciadas pela RBC (Rede Brasileira de Calibração). A ferramenta utilizada para o tratamento de dados foi planilhas Excel ® utilizada para cálculo e registro de informações que promovem a rastreabilidade das medições.

3.1 Teor de cinzas

Foram pesadas em balança analítica (com precisão de 0,0001g), após pulverização em almofariz, 2 g de própolis bruta em cadinho de porcelana previamente calcinado e resfriado (em dessecador). O conjunto foi colocado em placa de aquecimento a aproximadamente 350° C por 1 hora (até não mais emitir fumaça). Foi levado para mufla a 600°C até peso constante (quando a diferença entre as duas pesagens não ultrapassar 5 mg) (FIRESTONE, 2009; FUNARI, 2006). Repetiu-se o processo com a mesma amostra 10 vezes, fazendo-se também a prova em branco usando 2 cadinhos, sendo um no início e outro no final do procedimento. O branco foi feito da mesma forma que o procedimento normal, sendo que não se

utilizou a própolis. O cálculo utilizado para determinar o teor de Cinzas (minerais) em percentagem foi:

$$\% \text{ de cinzas (na própolis)} = (M_1 - M_2) / M_3 * 100$$

M_1 = massa da cinza + cadinho, g

M_2 = massa cadinho vazio + massa própolis, g

M_3 = massa da própolis pesada, g

3.2 Perda por dessecação

Os cadinhos de porcelana utilizados no experimento foram previamente aquecidos em estufa a 105°C, resfriados em dessecador e pesados em balança analítica (com precisão de 0,0001g). Aproximadamente 2,5 g de amostra de própolis anteriormente pulverizadas foram colocadas em cada cadinho. Levaram-se os cadinhos com as amostras para a estufa a 105°C até massa constante (a diferença entre as duas pesagens não deve ultrapassar 5 mg) (FUNARI, 2006; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988). Utilizou-se 12 cadinhos na análise sendo que dez continham amostra e dois foram utilizados como branco (seguiu-se o mesmo processo, sem utilizar a amostra). O método da Farmacopéia brasileira foi modificado substituindo-se o pesa-filtro por cadinho de porcelana.

$$\% \text{ perda por dessecação (na própolis)} = (P_1 - P_2) / P_3 * 100$$

P_1 = massa do cadinho com a amostra antes da dessecação (massa úmida), g

P_2 = massa cadinho com a amostra após a dessecação (massa seca), g

P_3 = massa da própolis pesada, g

Após a elaboração dos procedimentos operacionais padrão e teste das análises perda por dessecação e teor de cinzas em própolis realizou-se a validação destas análises. A validação produziu dados de desempenho do método e dos fatores que influenciam os resultados do método. No processo de validação foi realizado o cálculo de incerteza dos ensaios perda por dessecação e cinzas.

Estimou-se a incerteza das análises tendo como orientação o guia EURACHEM/CITAC. Na estimativa de Incerteza da determinação de cinzas por gravimetria obtiveram-se os seguintes resultados:

3.3.1 Especificação do mensurando

% de cinzas (na própolis) = $(M_1 - M_2)/M_3 * 100$

% de perda por dessecação (na própolis) = $(P_1 - P_2)/P_3 * 100$

3.3.2 Diagrama causa efeito

Identificaram-se as fontes de incerteza conforme a figura 1.

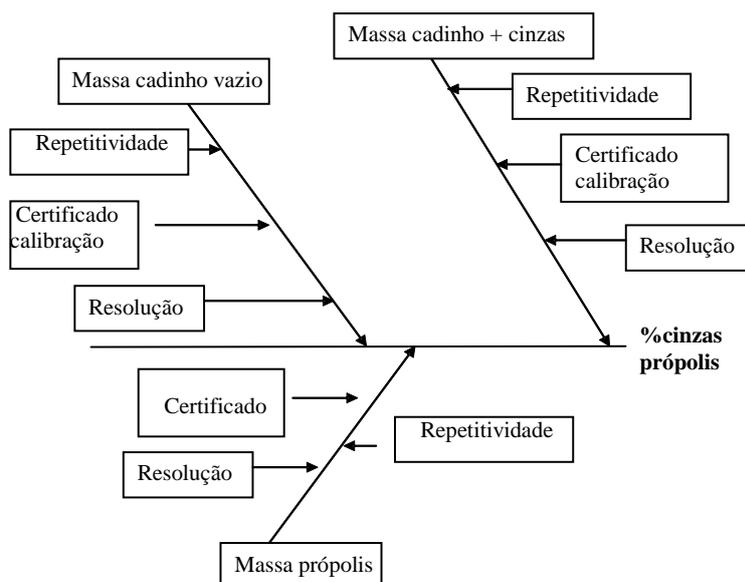


Figura 1: Diagrama Causa e efeito na determinação de cinzas em própolis

3.3.3 Grandezas de entrada

Os valores correspondem a média de n = 10

3.3.3.1 Para determinação de cinzas

Massa do cadinho vazio = 50,63227 gramas (g)

Massa do mel = 2,00162 g

Massa do cadinho + cinzas = 50,64244 g

% de cinzas = 0,5885246 g

3.3.3.2 Para determinação perda por dessecação

Massa úmida = 32,69235 g

Massa seca = 32,61764 g

Massa da própolis pesada = 2,50082 g

% de perda por dessecação = 2,905 g

3.3.4 Fontes de incerteza das grandezas de entrada

- Certificado balança - Incerteza expandida (U_{exp}) = 0,0015, $K = 2$ para probabilidade de 95%.

- Incerteza combinada (U_{comb}) = $U_{exp} / K = 0,0015 / 2 = \pm 0,00075g$

- Resolução da balança – $U_{exp} = 0,0001 g \rightarrow U_{resol} = 0,0001 / 2 \cdot \sqrt{3} = 0,000288 g$ (segundo guia EURACHEM/CITAC para a expressão da incerteza de medição)

- Repetitividade: foram realizadas pesagens em balança analítica para massas semelhantes (da amostra, do cadinho vazio e do cadinho com cinzas (para ensaio cinzas) e da amostra, massa úmida e massa seca (para ensaio perda por dessecação)), com intervalos de tempo inferior a cinco minutos (entre cada medição), com medições sucessivas do cadinho vazio e cadinho com cinzas (determinação de minerais) e massa úmida (massa do cadinho vazio com a massa do cadinho com a amostra antes da dessecação) e massa do cadinho com a amostra após a dessecação, utilizando-se o mesmo cadinho (o desvio padrão foi calculado para $n = 10$) obtendo os seguintes resultados:

Para cinzas

Massa da amostra de própolis- 0,000311983 g

Massa do cadinho vazio- 0,000133749 g

Massa do cadinho com cinzas- 0,000117382 g

Para perda por dessecação

Massa da amostra de própolis- 0,000261619 g

Massa úmida- 0,00011005 g

Massa seca- 0,0000843274 g

Foram calculadas para as grandezas de entrada (massa do cadinho vazio (P_v), massa do cadinho com cinzas ($P_{cad.cinzas}$), massa da amostra (P_a), massa úmida (M_u) e massa seca (M_s)) a incerteza expandida para o certificado (U_{cert}) e para a repetitividade (U_{rept}), além da incerteza combinada (U_{comb}), seguindo as seguintes fórmulas:

$$U_{cert} = U_{exp} / K = 0,0007 / 2 = 0,00035g;$$

$$U_{rept} = d / \sqrt{n} = d / \sqrt{10};$$

$$U_{comb} = \sqrt{U_{cert}^2 + U_{rept}^2 + U_{resol}^2}$$

3.3.5 Cálculo do coeficiente de sensibilidade (Ci)

O Ci transforma as grandezas de entrada nas unidades do mensurando e analisa a contribuição da cada variável na composição de incerteza.

$$\text{Ensaio cinzas} \left\{ \begin{array}{l} C_{i_{P_{\text{cad.cinzas}}}} = \text{cinzas} / P_{\text{cad.cinzas}} = 1 / P_a \times 100 \\ C_{i_{P_{\text{vazio}}}} = \text{Cinzas} / P_{\text{vazio}} = - 1 / P_a \times 100 \\ C_{i_{P_a}} = \text{Cinzas} / P_a = (P_{\text{cad.cinzas}} - P_{\text{vazio}} / P_a^2) \times 100 \end{array} \right.$$

$$\text{Ensaio perda por dessecação} \left\{ \begin{array}{l} C_{i_{M_s}} = \text{perd dess} / M_u = 1 / P_a \times 100 \\ C_{i_{P_{M_u}}} = \text{perd dess} / M_s = - 1 / P_a \times 100 \\ C_{i_{P_a}} = \text{perd dess} / P_a = (M_u - M_s / P_a^2) \times 100 \end{array} \right.$$

3.3.6 Cálculo dos componentes de incerteza

$$\text{Determinação de Cinzas} \left\{ \begin{array}{l} U_{P_{\text{cad.cinzas}}} = U_{C_{P_{\text{cad.cinzas}}}} \times C_{i_{P_{\text{cad.cinzas}}}} \\ U_{P_{\text{vazio}}} = U_{C_{P_{\text{vazio}}}} \times C_{i_{P_{\text{vazio}}}} \\ U_{P_a} = U_{C_{P_a}} \times C_{i_{P_a}} \end{array} \right.$$

$$\text{Determinação Perda por dessecação} \left\{ \begin{array}{l} U_{P_{M_s}} = U_{C_{P_{M_s}}} \times C_{i_{P_{M_s}}} \\ U_{P_{M_u}} = U_{C_{P_{M_u}}} \times C_{i_{P_{M_u}}} \\ U_{P_a} = U_{C_{P_a}} \times C_{i_{P_a}} \end{array} \right.$$

Os resultados obtidos para o cálculo da incerteza das grandezas de entrada, do coeficiente de sensibilidade e das contribuições das incertezas globais para determinação de cinzas, estão representados respectivamente nos gráficos 1 a 3.

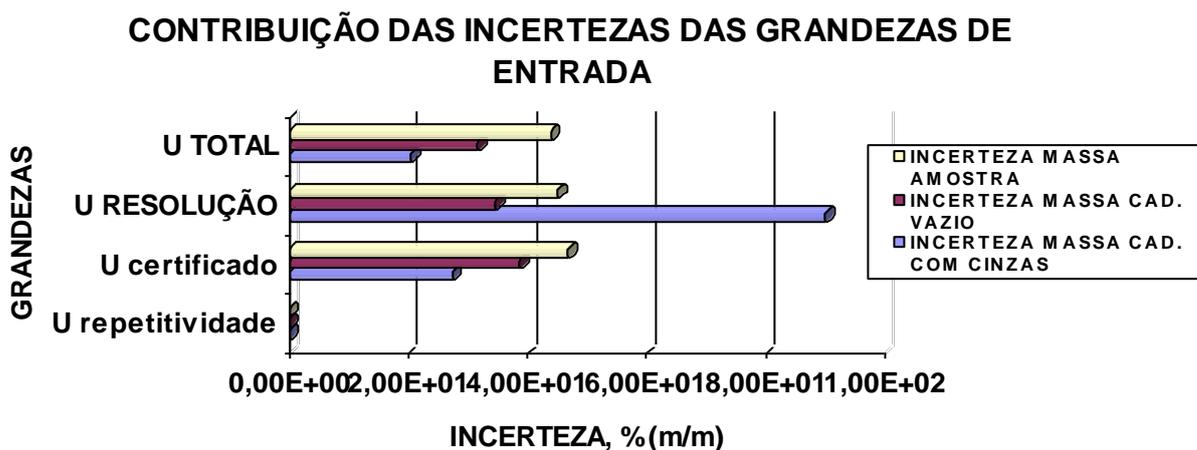


Gráfico 1: Contribuição das incertezas para determinação de cinzas em própolis.

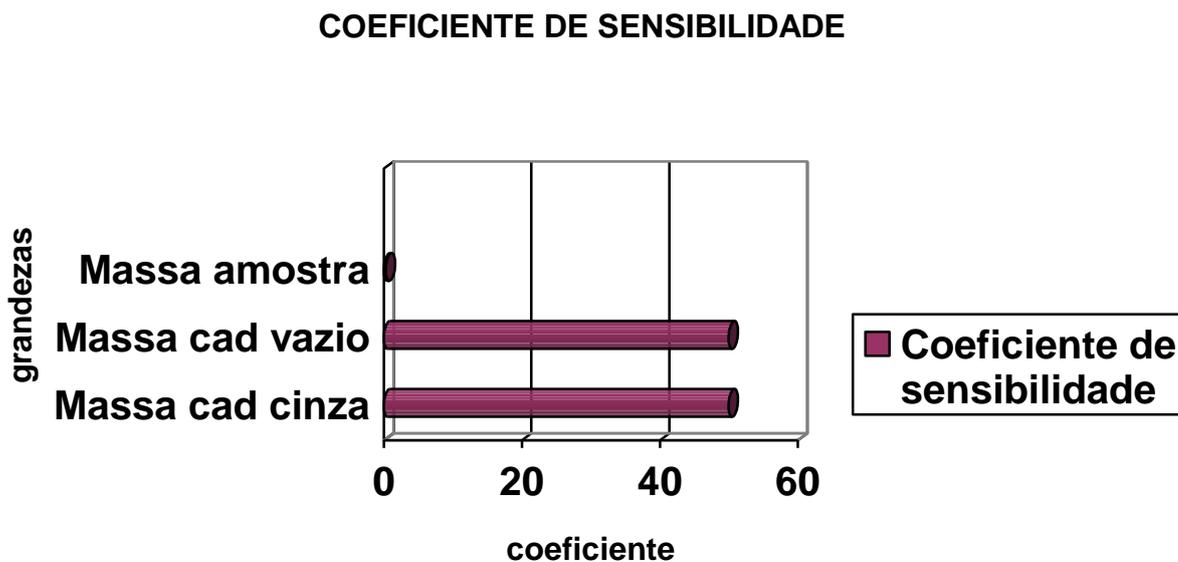


Gráfico 2: Coeficiente de sensibilidade para determinação de cinzas

CONTRIBUIÇÃO DAS INCERTEZAS GLOBAIS

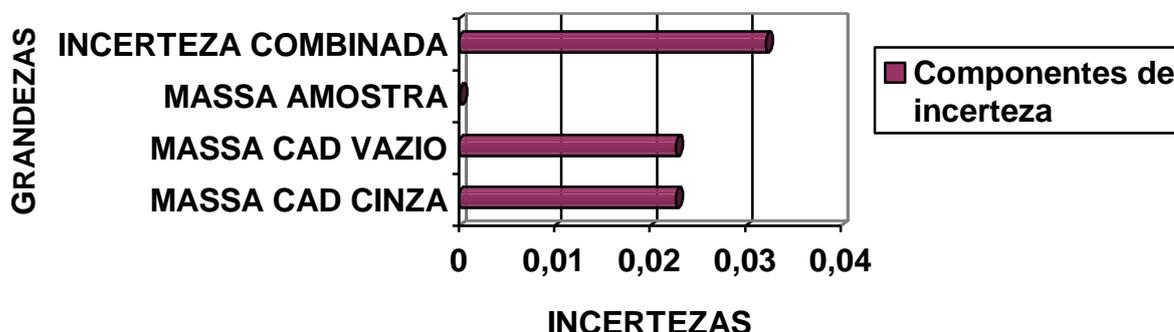


Gráfico 3- Contribuição das incertezas globais na análise de cinzas em própolis

3.3.7 Cálculo da incerteza padrão combinada

Cinzas $\Rightarrow U_{P\text{ comb}} = \sqrt{U_{P\text{ cad.cinzas}} + U_{P\text{ vazio}} + U_{P\text{ a}}}$

Perda por dessecação $\Rightarrow \sqrt{U_{P\text{ comb}}} = \sqrt{U_{M\text{ s}} + U_{M\text{ u}} + U_{P\text{ a}}}$

3.3.8 Cálculo do grau de liberdade efetivo (Veff)

Cinzas $\Rightarrow V_{\text{eff}} = U_{P\text{ comb}}^4 / [(U_{P\text{ vrep}} \times C_{i\text{ Pv}})^4 / (n-1) + (U_{P\text{ cad.cinzas rep}} \times C_{i\text{ Pcad.cinzas}})^4 / (n-1) + (U_{P\text{ a rep}} \times C_{i\text{ Pa}})^4 / (n-1)]$

Perda por dessecação $\Rightarrow V_{\text{eff}} = U_{P\text{ comb}}^4 / [(U_{M\text{ u rep}} \times C_{i\text{ Mu}})^4 / (n-1) + (U_{M\text{ s rep}} \times C_{i\text{ Ms}})^4 / (n-1) + (U_{P\text{ a rep}} \times C_{i\text{ Pa}})^4 / (n-1)]$

3.3.9 Coeficiente de abrangência (K)

$$K = \text{Invt}(0,05; V_{\text{eff}})$$

3.3.10 Cálculo da incerteza combinada expandida (U_{Cexp})

O $U_{C\text{exp}}$ é usado para inserção do nível de confiança almejado nas medições (95%).

$$U_{C\text{exp}} = U_{P\text{comb}} \times K$$

3.3.11 Expressão do resultado

A expressão do resultado é contínua e deve ser calculada a cada vez que ocorrer mudanças de uma das variáveis de entrada, ou seja, deve ser avaliado criticamente.

M cinzas, $U_{exp} \pm K$, probabilidade 95%

M perda por dessecação, $U_{exp} \pm K$, probabilidade 95%

DADOS	ENSAIOS	
	Cinzas	Perda por dessecação
Média de 10 determinações	0,589 % (m/m)	2,905 % (m/m)
Desvio padrão	0,0514 % (m/m)	0,144 % (m/m)
Incerteza combinada	0,0321 % (m/m)	0,0257 % (m/m)
Graus de liberdade efetivo	302636	3035498
Coefficiente de abrangência (K)	1,96	1,96
Incerteza combinada expandida	0,0630 % (m/m)	0,0504 % (m/m)
Probabilidade	95%	95%

Tabela 2: Dados de validação de cinzas e perda por dessecação

Os resultados encontrados evidenciam a importância do trabalho desenvolvido sobre o tema implantação das análises físico-químicas da própolis, segundo a norma ABNT NBR ISO/ IEC 17025:2005, visto que existe carência muito grande ou inexistência de publicações sobre o assunto em bases de dados de acesso aberto, proporcionando com isto a ampliação do conhecimento e preenchimento das lacunas existentes sobre o tema.

Para participar de ensaios de proficiência e interlaboratorial é necessário que algum órgão de competência o realize, mas até o momento não há nenhum com esta atribuição para a matriz própolis.

A acreditação/reconhecimento só vai ser possível realizar após solicitação da gerência da qualidade da EBDA ao órgão de competência (RBME, MAPA).

Com os resultados obtidos na validação do método de cinza observou-se:

No gráfico 1, a incerteza total da resolução e do certificado de calibração possuem valores bem próximos para a incerteza massa da amostra e para a

incerteza massa do cadinho, no entanto para a massa do cadinho com cinzas nota-se uma dispersão muito grande na incerteza da resolução da balança. Como consequência disto obteve-se um menor valor para a incerteza total. Os valores encontrados para a repetitividade, tanto para a incerteza da massa da amostra quanto para a massa do cadinho vazio e do cadinho com cinzas são quase iguais (possuem baixa dispersão).

Massa da amostra foi a variável que menos contribuiu para a composição da incerteza. As variáveis massa do cadinho vazio e com cinzas tiveram contribuições iguais na determinação de cinzas, conforme observado no gráfico 2.

As principais fontes de incerteza para a determinação de cinzas foram a massa do cadinho vazio e com cinzas, conforme mostra o gráfico 3.

Na tabela 2 temos os resultados da Probabilidade, Incerteza combinada expandida, Coeficiente de abrangência (K) e a média da concentração em % da determinação de cinzas e perda por dessecação, que serão parte integrante do laudo de resultado da EBDA.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para a implantação de laboratório de análises físico-químicas (cinzas e perda por dessecação) de própolis é necessário orientar-se por legislação e normas pré-estabelecidas pelo MAPA e ANVISA, além da descrição detalhada de rotinas experimentais e validação dos métodos para obtenção da expressão de resultados de composição do laudo e avaliação das principais fontes de incerteza e consequentemente redução destas fontes, com melhorias nos métodos e nos procedimentos de ensaio. Nas pesquisas bibliográficas realizadas em bases de dados eletrônicas foi possível encontrar as normas e a legislação, no entanto não foi encontrado nenhum descritor sobre o processo de implantação das análises físico-químicas para própolis. Portanto, o trabalho foi importante pois desenvolveu uma pesquisa experimental sobre o passo a passo para implantar análises físico-químicas em própolis, seguindo a norma NBR 17025:2005, contribuindo desta forma com a disseminação desta técnica, que possibilita a implementação de ações que venham a contribuir e garantir a melhoria da qualidade da assistência à saúde e segurança alimentar.

AGRADECIMENTOS

A Eliazéas Vicente de Almeida, que incondicionalmente colaborou com o desenvolvimento do trabalho. As colegas de trabalho Aurenice Maria dos Santos, Synara Matos Leal, Marília Melo de Jesus e Camila Lima. Ao professor Luiz Henrique de Oliveira e Silva. A EBDA pela disponibilização de sua estrutura para o desenvolvimento das análises. E ao CNPQ pelo apoio financeiro.

ABSTRACT

The propolis is a complex, resin and balsamic mix collected by bees from branches, flowers, pollen, shoots and radicular exsudations. Presents many biological properties such as antifungal, antioxidant, antiviral, antimicrobial and anticariogenic ones. Brazil is the world's second producer. The present study aimed to describe in a detailed way, the implantation of methodologies of propolis physical and chemical analysis, according to the standard NBR ISO/IEC 17025:2005. For the implantation of propolis physical and chemical analysis in lab is necessary to be aware of legislation, which rules measures and standards that regulate the technical and quality matters. For such, it's necessary to use methodologies given by MAPA (Normative Instruction nº3/2001) and follow ANVISA's orientation (Resolution – RDC nº 132/2003). The methodology used was research based on electronic material, magazines, thesis, books, dissertations, periodic and experimental work done at APA Laboratorial Unit of EBDA. The propolis sample analyzed was from Pojuca-Bahia. It's gotten as a result the creation of POP's to seven determinations, creation of quality internal control, test and validation of ash methods and loss for desiccation, as well as the obtaining of results expression to compose the reports analysis from EBDA for two analysis, besides the production of bibliographical material to assist the need of publication on this theme. Therefore, it's hoped that the implantation of physical and chemical analysis in propolis methodology at EBDA, contributes to the dissemination of this technique and provides the implementation of actions that guarantees the increasing of health assistance quality and food safety.

Key words: Analytical technology. Methodology implementation. Propolis. Quality System.

REFERÊNCIAS

1. GOMES, K. Produção de própolis vermelha agrega valor à apicultura. **Agência SEBRAE de Notícias**, [Brasília], 20. ago. 2009. Disponível em: <http://www.busca.sebrae.com.br/search?entqr=3&getfields=* &output=xm l_no_dtd&sort=date%253AD%253AL%253Ad1&client=web_um&ud=1&oe=UTF-8&ie=UTF-8&proxystylesheet=sebrae2&site=web_all&filter=0&q=propolis+quilo>. Acesso em 10. dez. 2009.

2. SANTOS, R. C. Pesquisadores classificam novo tipo de própolis com atividade antimicrobiana. **Jornal da UNICAMP**, Campinas, 1. jun. 2008. p. 8.
3. CASTRO, M. L.; CURY, J. A.; ROSALEN. P.L. Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. **Rev. Química Nova**, Rio de Janeiro. v. 30, n. 7, out. 2007. p. 1512-1516.
4. BRASIL a. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. In: CATEF: Câmara Técnica de Medicamentos Fitoterápicos. **Nota Técnica sobre o Registro de Produtos Contendo Própolis**. [Brasília], 2005. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/catef/index.htm>>. Acesso em: 2. mar.2009.
5. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. GMEFH/GGMED. Prêmio Inovação na Gestão Pública Federal, de 28 de setembro de 2009. Medicamentos fitoterápicos: Parte I – Registro e políticas Brasília, 2007. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/medicamentos_fitoterapicos.pdf >. Acesso em: 22.out. 2009.
6. NOGUEIRA NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Nogueirapis,1997. 445 p.
7. REIS, C. M. F. *et al.* Atividade antiinflamatória, anti ulceragástrica e toxicidade subcrônica do extrato etanólico de própolis. **Rev. Bras. de Farmacognosia**, João Pessoa, v.9, 2000. p. 43-52.
8. NASCIMENTO, E. A. do. *et al.* Atividade antioxidante de própolis verde, marrom e avermelhada de região que contém alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*). **Rev. Mensagem doce**, São Paulo, n.92, jul. 2007. p. 1-4.
9. BRASIL b. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Notícias- Antibiótico natural**. [Brasília], 2005. Disponível em: <<http://www.sistemas.aids.gov.br/imprensa/Noticias.asp?NOTCod=62905>>. Acesso em: 03. jun.2009.
10. ANDRÉA, M. V.; COSTA, C. N.; CLARTON, L. Própolis na cura e prevenção de doenças? Pode ser uma boa alternativa! **Rev. Bahia Agríc.**, Cruz das Almas, v.7, n.1, set. 2005. p. 19-21.

11. LUSTOSA, S. R. *et al.* Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Rev. Bras. de Farmacognosia**, João Pessoa, v.18, 2008. p. 447-454.
12. INOUE, H. T. *et al.* Produção de própolis por diferentes métodos de coleta. **Rev. Asociación Latinoamericana de Producción Animal**, Botucatu, n. 2, v. 15, p. 65-69, 2007. Disponível em: <[http://www.alpa.org.ve/PDF/Arch% 2015-2/htiemiinoue .pdf](http://www.alpa.org.ve/PDF/Arch%2015-2/htiemiinoue.pdf)>. Acesso em: 27. mar. 2009.
13. SUZUKI, I. A própolis de solução aquosa. **Rev. Mensagem doce**, São Paulo, n. 58, set. 2000. p.10-16.
14. MALASPINA, O.; PALMA, M. S.. **Própolis brasileira: controle de qualidade e legislação**. UNESP. Rio Claro, 2000. Disponível em: <[http://www.apinetla.com .ar/congreso/c02.pdf](http://www.apinetla.com.ar/congreso/c02.pdf)>. Acesso em: 22. mar. 2009.
15. PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M. Classificação das própolis brasileiras a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Rev. Mensagem doce**, São Paulo, n.58, set. 2000. p. 2-6.
16. BRASIL a, Ministério da Agricultura. VISALEGIS. **Instrução Normativa n.3**, de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade da própolis e extrato de própolis. [Brasília], 2 jun 2003. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1798>>. Acesso em: 25. mar. 2009.
17. BRASIL b. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 132**, de 29 de Maio de 2003. Dispõe sobre o registro de medicamentos específicos.[Brasília], 2003. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=7885>>. Acesso em: 22. mar. 2009.
18. ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Qualidades nutritivas dos produtos das abelhas. **Rev. Mensagem doce**, São Paulo, n. 96, mai. 2008. p.14-17.
19. CARVALHO, A. D. **ABNT NBR ISO/ IEC 17025:2005**. INMETRO. [S.I.] Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/palestras/ABNT NBR_IEC17025.pdf](http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/palestras/ABNT_NBR_IEC17025.pdf)> . Acesso em: 02. abril. 2009.

20. LABSOFT. **Implantação da ISO/IEC 17025**. [S.l.]. Disponível em: <<http://labsoft.com.br/index.php/m-artigos/184-implantacao-da-isoies-17025>>. Acesso em: 23.mar.2009.
21. INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia. **DOQ-CGCRE-008 Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos.**, Rev. 1. mar, 2003. 35 p.
22. GUIA EURACHEM/CITAC. **Determinando a incerteza na medição analítica**. 1. ed. brasileira, 2002. 166 p.
23. BANDEIRA, M. L. S. DE F. *et al.* Implantação de laboratório para análise de produtos apícolas: avaliação de incertezas e adequação de métodos pela ABNT ISO/IEC 17.025 para certificação de mel. In: V CONGRESSO BRASILEIRO DE METROLOGIA, Salvador: 2009.
24. FIRESTONE, D. (Ed). **Official Methods and Recommended Practices of the AOCS**. 6th ed. Urbana, 2009. 1200 p.
25. FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de Própolis. **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, n. 26, jan-mar. 2006. p. 171-178. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n1/28867.pdf>>. Acesso em: 25.set. 2009.
26. FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo: Atheneu, pt. 1, 1988.

Publicado, em 22 de agosto de 2010, na www.revistapindorama.ifba.edu.br