



Teor de fenólicos e atividade antioxidante de própolis em áreas de floresta e savana de Roraima

Sheron R. M. Barbosa¹, Gardênia H. Cabral^{1,2}, Luiz Antonio M. A. da Costa³,
Adriana Flach^{1,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais– Universidade Federal de Roraima (UFRR)

²Departamento de Zootecnia – Universidade Federal de Roraima (UFRR)
Boa Vista – RR – Brasil

³Departamento de Química – Universidade Federal de Roraima (UFRR)
Boa Vista – RR – Brasil

sheron.ranielly@hotmail.com, gardênia.cabral@ufrr.br,
luizufrr@gmail.com, aflach@gmail.com

Abstract. *This work aimed to propolis study produced in Roraima by Apis mellifera on basis of the chemical composition and antioxidant activity. Samples were collected in forest areas (MJ) and savannah (BF) and subsequent ethanolics extracts were obtained. Phenolics and flavonoids were quantified and to antioxidant activity were measured by different methods. BF presented high content of phenolics (40.89 mg gallic acid/g propolis) and flavonoids (3.41 mg quercetin/g propolis, 4.75 mg pinocembrin/g propolis) and antioxidant activity in DPPH assay (85.89 μ mol trolox/g propolis). However, β -carotene/linoleic acid the virtually no ranged between MJ (85.88%) and BF (84.98%).*

Resumo. *Neste trabalho objetivou-se estudar própolis produzidas em Roraima por Apis mellifera com base na composição química e atividade antioxidante. Coletou-se amostras em áreas de floresta (MJ) e savana (BF) para posterior obtenção dos extratos etanólicos. Quantificou-se fenólicos e flavonoides, e determinou-se a atividade antioxidante por diferentes métodos. BF apresentou maior teor de fenólicos (40,89 mg ácido gálico/g própolis), flavonoides (3,41 mg quercetina/g; própolis 4,75 mg pinocembrina/g própolis) e se destacou com 85,89 μ mol trolox/g própolis no ensaio com DPPH. No entanto, por β -caroteno/ácido linoleico o percentual praticamente não variou entre MJ (85,88%) e BF (84,98%).*

1. Introdução

Segundo a Instrução Normativa número 3, de 19 de janeiro de 2001, própolis é o produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas colhidas pelas abelhas, de brotos, flores e exsudados de plantas, nos quais os referidos insetos acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto [Brasil 2001].

O material supracitado é o produto apícola mais estudado na atualidade em todo mundo. A composição e atividade biológica são parâmetros utilizados para sua caracterização, englobando grupos químicos. Já foram identificados várias classes de



compostos orgânicos como ácidos graxos, aldeídos e terpenos [Torres et al. 2008], compostos fenólicos [Miguel et al. 2014] e flavonoides [Marghitas et al. 2007].

A própolis também apresenta várias atividades farmacológicas dentre elas: antibacteriana, antioxidante [Cabral et al. 2009], anticancerígena, anti-HIV [Park et al. 2000], antimutagênica, antifúngica, anti-inflamatória, antiviral, antiprotzoário [Pinto, Prado e Carvalho 2011].

Artigos têm sido publicados acerca da composição desse material e os fatores que interferem na sua qualidade e quantidade produzida, sendo um desses, o tipo de vegetação [Souza et al. 2010]. Isso faz com que a importância de estudos individualizados dos locais dos apiários mereça destaque. No entanto, mesmo que presentes em alguns tipos de própolis, os constituintes responsáveis por essas atividades podem variar em seus teores

Não só o Brasil, mas vários países têm realizado estudos com a finalidade de analisar os fatores que podem levar à diversificações da própolis. Poucos são os estudos que avaliam composição química e atividade biológica de própolis oriundas da região Norte do Brasil.

A apicultura no estado de Roraima é beneficiada com o bioma Amazônia, e de acordo com o INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia), em sua composição vegetal predominam basicamente áreas de florestas úmidas e de savanas em suas mais diversas feições [Brasil 2008].

Diante da grande potencialidade de estudos com própolis e a falta de dados sobre este produto em Roraima, este artigo tem como objetivo analisar a própolis produzida nos municípios de Mucajaí e Bonfim - RR provenientes de *Apis mellifera* em áreas de floresta e savana, respectivamente, com base na composição química e atividade antioxidante.

2. Materiais e Métodos

2.1 Coleta das amostras

As amostras de própolis foram coletadas entre abril de 2015 e janeiro de 2016 em dois apiários de *Apis mellifera*, localizados em duas regiões do estado de Roraima, uma em área de floresta (região do Tamandaré - Mucajaí, N 02°27'01.4" / W 060°54'27.9") e outra em área de savana (Região do Confiança - Bonfim, N 02°56'00.0" / W 060°21'27.6"). Os quadros coletores de própolis utilizados foram do tipo cobertura, medindo 50 x 30 cm e com duas aberturas de 0,5 cm nas laterais de maior comprimento. Os coletores foram colocados de maneira aleatória em cinco colmeias em cada apiário. As coletas foram realizadas por meio de técnica de raspagem convencional. As amostras das cinco colmeias foram maceradas e constituíram uma amostra composta que representou cada apiário sendo decodificadas MJ (oriunda de Mucajaí) e BF (oriunda de Bonfim).

2.2 Preparo dos Extratos Etanólicos Própolis (EEP)

Uma porção de 2 g de própolis macerada de cada apiário foi extraída com 100 mL de etanol P.A. (96%) e submetida à extração sob agitação em incubadora Shaker (230 rpm/min) à 35°C, por seis horas. Ao término, foram mantidas ao abrigo da luz por



quatro dias. Posteriormente, foram agitadas manualmente e filtradas. O volume de 100 mL foi completado com o etanol e as soluções foram mantidas sobre refrigeração a -18°C.

2.3 Fenólicos

A análise de compostos fenólicos dos EEP foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu [Folin e Ciocalteu 1927], com adaptações [Pontis et al. 2014], utilizando ácido gálico em metanol como padrão (1 mg/mL). Misturou-se em balões de 5 mL alíquotas dos EEP, 300 µL de Folin-Ciocalteu, 2 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (15%) e completou-se o volume final com água destilada. O branco foi constituído por 300 µL do reagente de Folin-Ciocalteu, 2 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (15%) e o volume do balão completado com água destilada. As amostras foram mantidas ao abrigo da luz por duas horas, e em seguida, centrifugadas. A absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-visível à 798 nm e os resultados expressos em mg de ácido gálico/g de própolis.

2.4 Flavonas e flavonóis

O teor de flavonas e flavonóis foi determinado pelo método espectrofotométrico com cloreto de alumínio - $AlCl_3$ à 5% [Dowd 1959; Pontis et al. 2014], e a curva de calibração construída com o padrão quercetina em etanol (1 mg/mL). Em balões de 5 mL pipetou-se alíquotas dos EEP, 2 mL de solução de $AlCl_3$ (5%) e completou-se o volume com etanol. O branco foi constituído de alíquotas dos extratos e o volume completado com etanol. Após 30 minutos ao abrigo da luz, as amostras foram centrifugadas, suas absorbâncias lidas à 441 nm em espectrofotômetro UV-visível e o conteúdo de flavonas e flavonóis expressos em mg de quercetina/g de própolis.

2.5 Flavanonas e diidroflavonóis

Para quantificar flavanonas e diidroflavonóis usou-se o método espectrofotométrico usando o reagente 2,4-dinitrofenilidrazina (DNP) [Tylkowski et al. 2010], adaptado por Pontis et al. (2014). A curva de calibração foi obtida com o padrão pinocembrina. Em balão volumétrico de 50 mL misturou-se alíquotas dos EEP e 400 µL de solução de DNP (preparada com 0,5 g de DNP seco à 60 °C em estufa, 1 mL de ácido sulfúrico à 96%) e metanol para completar o volume. As misturas foram mantidas em banho-maria por 50 minutos à 50°C. Em seguida foram acrescentados 1,4 mL de solução de KOH à 10% [metanol/água (7:3)], e desta solução foram pipetadas alíquotas de 150 µL para balões de 5 mL que tiveram seus volumes completados com metanol. O branco sofreu os mesmos procedimentos das amostras e foi constituído do mesmo doseamento, com exceção da alíquota referente aos extratos. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro UV-visível a 493 nm e os resultados expressos em mg de pinocembrina/g de própolis.

2.6 Atividade antioxidante

2.6.1 Método do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)



A atividade antioxidante pela redução do radical livre DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazila) foi quantificada a partir da curva de calibração utilizando o trolox como padrão de antioxidante [Brand-Williams, Cuvelier e Berset 1995; Nenadis et al. 2004; Rufino et al. 2015]. A solução de DPPH foi preparada a uma concentração de 0,06 mM em etanol, e sua absorbância ajustada para ficar entre 0,5 e 0,6 à λ 515 nm através da adição de solvente. A solução de trolox foi preparada em etano na concentração de 5 μ M. Em balões de 5 mL pipetou-se 4 mL da solução preparada de DPPH e acrescentou-se diferentes alíquotas dos EEP. Preparou-se uma amostra controle contendo 4 mL da solução de DPPH e etanol para completar o volume do balão de 5 mL. O branco foi constituído apenas de etanol. Após 30 minutos de reação ao abrigo da luz, as absorbâncias de todas as soluções foram medidas em espectrofotômetro UV-visível à 515 nm e os resultados expressos em μ mol equivalente de trolox/g de própolis.

2.6.2 Método da auto oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

A capacidade dos EEP em prevenir a oxidação do β -caroteno foi avaliada de acordo com metodologia descrita por Emmons, Peterson e Paul (1999), com algumas adaptações [Rockenbach et al. 2008]. Foram misturadas alíquotas de 40 μ L de ácido linoleico, 265 μ L de Tween 80, 50 μ L de solução β -caroteno (10 mg/mL) e 1 mL de clorofórmio. Após, o clorofórmio foi removido com a utilização de corrente de gás nitrogênio e o resíduo obtido foi redissolvido em aproximadamente 100 mL de água aerada. A emulsão formada (sistema β -caroteno/ácido linoleico) teve sua absorbância ajustada entre 0,7 e 0,6 nm à 470 nm. Para o controle foi utilizado o sistema de emulsão β -caroteno/ácido linoleico (sem antioxidante). Para o controle positivo preparou-se uma solução de trolox (1 mg/mL) em metanol e, desta solução pipetou-se 50 μ L para um balão de 5 mL e completou-se até o menisco com emulsão. A atividade antioxidante (AA) foi expressa como percentual de inibição relativa comparada ao controle depois de 120 minutos, de acordo com a expressão a seguir [Emmons, Peterson e Paul 1999].

$$AA\% = \left\{ \left[\frac{(DRc - DRs)}{DRc} \right] \times 100 \right\}$$

Onde:

DRc = Taxa de degradação do controle (sistema) $[(\ln(a/b)/120)]$;

DRs = Taxa de degradação na presença do padrão ou extrato $[(\ln(a/b)/120)]$;

ln = Logaritmo natural;

“a” e “b” são as absorbâncias no tempo inicial (0 min) e no tempo final (120 min).

2.7 Espectrofotometria de absorção na região UV-visível

As análises relacionadas ao teor de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante foram realizadas em um espectrofotômetro UV-visível da Shimadzu, modelo UV-mini 1240.

2.8 Análise estatística

Todas as análises de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante foram realizados em triplicatas e os dados expressos em média \pm desvio padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1 Teor de fenólicos, Flavonas e flavonois, e Flavanonas e diidroflavonois

As medidas das absorvâncias e as concentrações das soluções do padrão de ácido gálico permitiram a obtenção de uma curva de calibração, possibilitando calcular a concentração de fenólicos nas amostras de própolis (Figura 1).

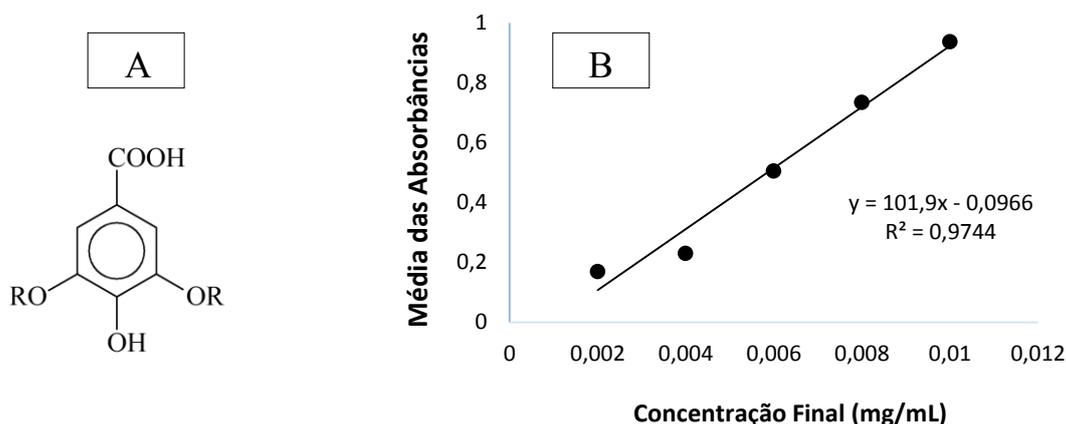


Figura 1. Estrutura química (A) e curva de calibração do ácido gálico (B)

Os flavonoides (flavonas e flavonois, favanonas e diidroflavonois) são compostos bioativos do grupo dos polifenóis encontrados no reino vegetal. Os dados das absorvâncias e concentrações das soluções dos padrões de quercetina e pinocembrina permitiram a construção das respectivas curvas de calibração (Figuras 2 e 3), e consequentemente a realização do cálculo de concentração das sub classes flavonas e flavonois, e flavanonas e diidroflavonois.

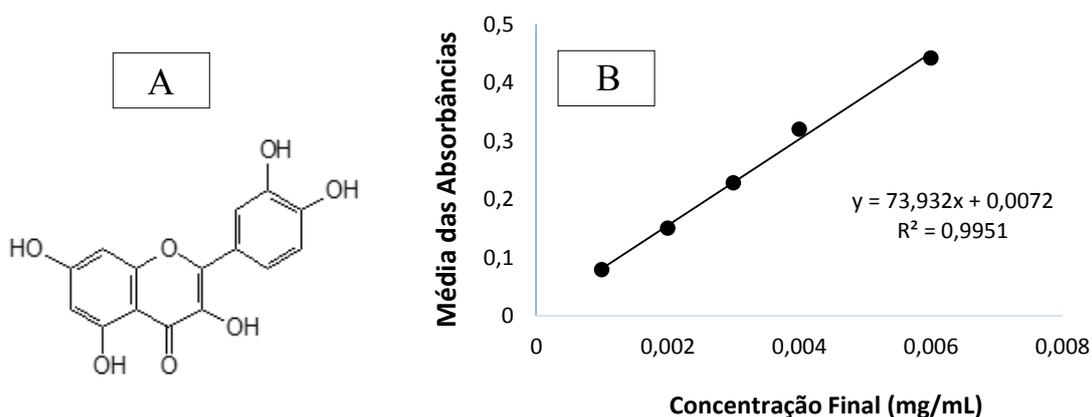


Figura 2. Estrutura química (A) e curva de calibração quercetina (B)

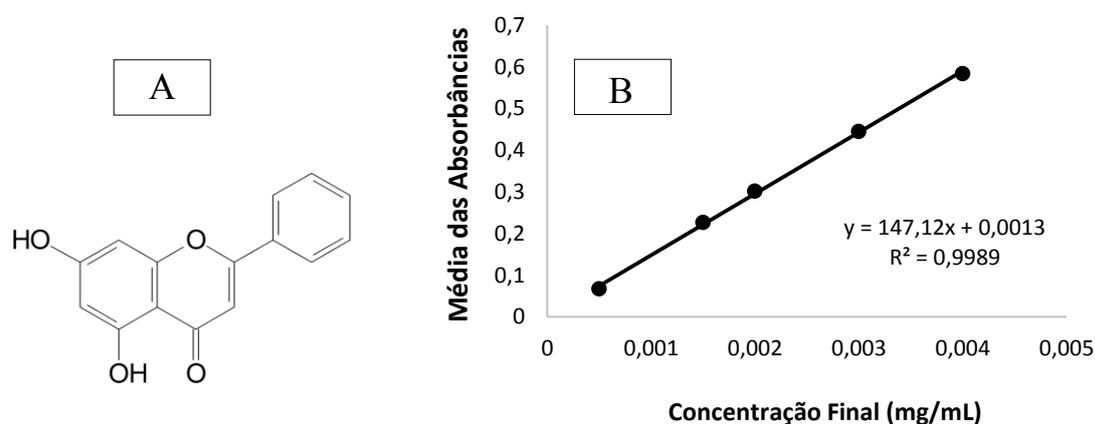


Figura 3. Estrutura química (A) e curva de calibração da pinocembrina (B)

Na tabela 1 observam-se os resultados obtidos para a quantificação das classes de compostos realizadas neste estudo.

Tabela 1. Teor de compostos fenólicos e flavonoides em amostras de própolis das áreas de floresta e savana em Roraima

AMOSTRA	Fenólicos (mg AGE/g)	Flavonas e flavonóis (mg QE/g)	Flavanonas e diidroflavonóis (mg PE/g)
MJ (Floresta)	6,39 ± 0,54	0,37 ± 0,02	1,93 ± 0,27
BF (Savana)	40,89 ± 4,45	3,41 ± 0,17	4,75 ± 0,10

AG: Equivalente ácido gálico; QE: Equivalente quercetina; PE: Equivalente pinocembrina.

A amostra que apresentou ser mais rica tanto em teor de fenólicos (40,89 mg AGE/g) quanto de flavonoides (3,41 mg QE/g; 4,75 mg PE/g) foi a BF, proveniente de área de savana. Pesquisas referentes à quantificação desses compostos em própolis, nas fitofisionomias aqui abordadas, não são encontrada na literatura.

Melo, Matsuda e Almeida-Muradian (2012) analisaram os teores de fenólicos e flavonas e flavonóis em amostras de própolis de diferentes municípios de quatro regiões do Brasil: nordeste, sudeste, sul e centro-oeste. Não realizaram comparações ou descrição da vegetação dos locais onde as amostras foram coletadas. Encontraram variações na composição tanto de fenólicos quanto de flavonas e flavonóis, mesmo dentro da mesma região. Quanto aos fenólicos, obtiveram valores que variaram entre 9,5 a 295,2 mg/g, muito superior ao que foi obtido dos apiários MJ e BF. Os teores de flavonas e flavonóis foram determinados e os teores variaram entre 1,30 a 52,7 mg/g. A média entre as amostras variaram entre as regiões, para as amostras da região sudeste obtiveram média de 43,66 mg/g, para o nordeste (14,64 mg/g), no sul (21,74 mg/g) e no centro-oeste (20,41 mg/g), sendo que a maior parte das amostras apresentou teores de flavonas e flavonóis menores que as obtidas em MJ e BF.

Castro et al. (2007) analisando extratos de própolis do tipo 12 (Brumadinho – MG), verificaram teores de fenólicos elevados (81,70 e 94,98 mg/g). Alves e Kubota (2013) determinaram fenólicos e flavonas e flavonóis em extratos etanólicos de própolis comercializados em Santa Maria - RS, e verificaram que o teor fenólicos variou de 70,60 à 539,10 mg/g e o teor de flavonas e flavonóis nas entre 48,95 à 110,61 mg/g.



Nascimento et al. (2007) estudando própolis provenientes de regiões do estado de Minas Gerais constataram, que houve variação um pouco menor do que os relatados acima da referida sub classe de flavonoides (5,0 à 31,3 mg/g). Todos os resultados aqui expostos para as classes em questão foram superiores aos verificados no presente estudo.

Lacerda (2012) estudando sobre o teor de flavonoides em amostras de própolis em diferentes localidades dos estados do Paraná e Santa Catarina pertencentes ao bioma Mata Atlântica, constatou que os teores de flavonoides variaram de 0,0 à 2,31 mg/g. O teor máximo de flavonas e flavonóis observado pelo autor foi inferior ao encontrado nesta pesquisa (0,37 à 3,41 mg/g). Além disso, os teores variaram a partir de zero (0,0 mg/g), enquanto neste estudo nenhuma das amostras exibiu ausência dos referidos compostos, demonstrando que apesar de baixos teores eles estão presentes.

Para a sub classe flavanonas e diidroflavonois, Trusheva, Trunkova e Bankova (2007), ao analisarem a própolis de Bolonha – Itália através de diferentes métodos de extração de componentes biologicamente ativos, verificaram teores entre 18 e 19%. Marghitas et al. (2007), também avaliaram a quantidade total de flavonoides totais por diferentes métodos em 14 amostras de própolis da Romênia, e o teor de flavanonas e diidroflavonois observados variaram de 4,84 à 7,54%. Os teores da sub classe de flavonoides encontrados pelos autores supracitados foram superiores aos verificados nas amostras de própolis roraimense: 0,19 à 0,47% (1,93 à 4,75 mg PE/g).

De maneira geral, embora as própolis que analisamos e as dos autores supracitados tenham sido elaboradas por abelhas *Apis mellifera*, as variações referentes às concentrações dos compostos era esperada, visto que esta pode ocorrer em função de diferentes fatores, como por exemplo, pela flora local e região da coleta [Sousa et al. 2007; Marghitas et al. 2007].

3.2 Atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi realizada através da redução do radical livre DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazila) pelos antioxidantes presentes nas amostras. Já a auto oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico foi utilizada para verificar a capacidade dos EEP em prevenir a oxidação do β -caroteno.

Na tabela 2 observam-se os valores para a atividade antioxidante por dois métodos das amostras analisadas.

Tabela 2. Atividade antioxidante pelo método DPPH e β -caroteno/ácido linoleico em amostras de própolis das áreas de floresta e savana em Roraima

AMOSTRA	AA por DPPH ($\mu\text{mol TE/g de própolis}$)	AA por β -caroteno/ácido linoleico (%)
MJ (Floresta)	27,01	85,88
BF (Savana)	85,89	84,98

AA: atividade antioxidante; TE: Equivalente trolox.

Nota-se que para quantificação de atividade antioxidante pelo método DPPH, a amostra de área de savana (BF) apresentou-se superior (85,89 $\mu\text{mol TE/g}$) a amostra MJ, referente a área de floresta (27,01 $\mu\text{mol TE/g}$). Oldini et al. (2015), estudando o potencial antioxidante de própolis produzidas por *Apis mellifera* na cidade de Dois



Vizinhos, no Paraná, verificaram atividade nos extratos etanólicos variando de 0,000126 a 0,000350 $\mu\text{mol trolox/g}$.

Estudos com própolis em outros países também evidenciaram variações de potencial antioxidante entre as amostras. Mihai et al. (2011), analisando a atividade antioxidante em própolis coletadas em diferentes localidades da Transilvânia – Romênia, observaram que mesmo em baixos teores, houve grande variação do potencial antioxidante entre as amostras (0,00029 a 0,00123 $\mu\text{mol trolox/g}$).

De acordo com o exposto acima, os resultados exibidos para a própolis roraimense são bastante superiores quando comparados aos encontrados por Mihai et al. (2011) e Oldini et al. (2015). Essa notável diferença pode estar relacionada não apenas às regiões geográficas, mas também à composição química das plantas de onde as abelhas coletaram as resinas, presumindo assim que a vegetação dos locais de coleta em Roraima apresentam plantas que produzem compostos secundários com notável atividade antioxidante.

O percentual de atividade antioxidante pelo método β -caroteno/ácido linoleico entre as áreas de floresta (MJ) e savana (BF) praticamente não variaram, 85,88 e 84,98%, respectivamente. Estudos de Cabral et al. (2009) com própolis vermelha produzida por *Apis mellifera* no estado de Alagoas demonstraram que, a atividade antioxidante do extrato etanólico apresentou elevada ação antioxidante (61,26%). No entanto, esse percentual é inferior quando comparado aos verificados para as amostras de própolis roraimenses.

Ikegaki (2001), avaliando a capacidade antioxidante de amostras de própolis da região sul do Brasil encontrou valores com grande variação entre as amostras coletadas em diferentes localidades (65,50% e 95,10%), corroborando com os encontrados neste estudo, pois as amostras roraimenses das diferentes áreas também foram elevadas. Isso pode ser explicado pela influência fitogeográfica e climática dos locais de coleta sobre as características das própolis. A diversidade vegetal dos locais está à disposição das abelhas para a coleta, o que resulta na ocorrência de variados tipos de própolis, com consequentes diferenças em suas composições químicas [Barth et al. 2013; Park et al. 2002].

4. Conclusões

Os teores de fenólicos e flavonoides, em geral foram abaixo dos encontrados na literatura, sendo a amostra referente a área de savana a que apresentou as maiores concentrações dos compostos citados. Entretanto esses dados são pioneiros no que tange aos estudos com própolis em fitofisionomias de floresta e savana. A atividade antioxidante por ambos os métodos utilizados foi significativa, apresentando valores elevados quando comparados a outros trabalhos realizados com própolis.

Agradecimentos

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos e ao CNPq pelo financiamento (Projeto Universal 14/2011, processo 472917/2011-0).



Referências

- Alves, E. e Kubota, E. H. (2013) “Conteúdo de Fenólicos, Flavonoides Totais e Atividade Antioxidante de Amostras de Própolis Comerciais”. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, [S.l.], v. 34, n. 1, p. 37-41.
- Barth, O. M. et al. (2013) “Botanical Origin and Artepillin-C Content of Brazilian Propolis Samples”. *Grana*, [S.l.], v. 52, n. 2, p. 129-135.
- Brasil (2001) “Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Própolis”. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 3, de 19 de janeiro de 2001. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, p.18-23.
- Brasil (2008) “O Lavrado de Roraima: Importância Biológica, Desenvolvimento e Conservação na Maior Savana do Bioma Amazônia”. Ministério da Ciência e Tecnologia. Roraima: INPA, 2008. 8 p.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. e Berset, C. (1995) “Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity”. *Food Science and Technology*, [S.l.], v. 28, s./n., p. 25-30.
- Castro, M. L. et al. (2007) “Própolis do Sudeste e Nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica”. *Química Nova*, [S.l.], v. 30, n. 7, p. 1512-1516.
- Cabral, I. S. R. et al. (2009) “Composição Fenólica, Atividade Antibacteriana e Antioxidante da Própolis Vermelha Brasileira”. *Química Nova*, [S.l.], v. 32, n. 6, p. 1523-1527.
- Cottica, M. S. et al. (2011) “Antioxidant Activity and Composition of Propolis Obtained by Different Methods of Extraction”. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, [S.l.], v. 22, n. 5, 929-935.
- Dowd, L. E. (1959) “Spectrophotometric Determination of Quercetin”. *Analytical Chemistry*, [S.l.], v. 31, s./n., p. 1184-1187.
- Emmons, C., Peterson, D. M. e Paul, G. L. (1999) “Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa* L.) extracts. 2. In vitro antioxidant activity and contents of phenolic and tocol antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, California - EUA, v. 47, n. 12, p. 4894-4898.
- Ferreira, D. F. (2008) “SISVAR: Um Programa para Análises e Ensino de Estatística”. *Revista Symposium*, Lavras - MG, v. 6, s./n., p. 36-41.
- Filho, D. B. F. e Junior, J. A. S. (2009) “Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r)”. *Revista Política Hoje*, [S.l.], v. 18, n. 1, p. 115-146.
- Folin, O. e Ciocalteu, V. (1927) “On Tyrosine and Tryptophane Determinations in Proteins”. *The Journal of Biological Chemistry*, [S.l.], v. 73, s./n., p. 627-650.
- Flonarr (2015) “Características da UC”, <http://flonarr.blogspot.com.br/p/caracteristicas-da-uc.html>, Maio.
- IBGE (2012) “Manual Técnico da Vegetação Brasileira”, 2 ed. Rio de Janeiro.
- Ikegaki, M. (2001) “Determinação da Qualidade de Própolis de *Apis mellifera* Africanizada da Região Sul do Brasil: Avaliação de Algumas Propriedades Físico-



- químicas e Biológicas da Própolis”. 2001. 83p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Pós-graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- Lacerda, R. C. C. (2012) “Avaliação da Composição Química e Atividade Antioxidante da Própolis Orgânica de *Apis mellifera* Visando à Preservação Ambiental do Ecosistema Envolvido”. 2012. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Pós-graduação em Ciências, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Marghitas, L. A. et al. (2007) “Validated Method for Estimation of Total Flavonoids in Romanian Propolis”. Journal Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca, [S.l.], v. 63/64, s./n., p. 164-169.
- Melo, A. A. M., Matsuda, A. H. e Almeida-Muradian, L. B. (2012) “Identity and Quality of Propolis from Four Regions of Brazil”. Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 71, n. 3, p. 540-548.
- Mihai, C. M. et al. (2011) “Correlation Between Polyphenolic Profile and Antioxidant Activity of Propolis from Transylvania”. Animal Science and Biotechnologies, [S.l.], v. 44, n. 2, p. 100-103.
- Miguel, M. C. et al. (2014) “Phenols, Flavonoids and Antioxidant Activity of Aqueous and Methanolic Extracts of Propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal”. Food Science and Technology, Campinas, v. 34, n. 1, p. 16-23.
- Nascimento, E. A. et al. (2007) “Atividade Antioxidante de Própolis Verde, Marrom e Vermelha de Regiões que contêm Alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*). Apacame, Campinas – SP, v. 92, s./n.
- Nenadis, N., Wang, L. F. e Tsimidou, M. Z. (2004) “Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds using the ABTS•+ Assay”. Journal of Agricultural and Food Chemistry, [S.l.], v. 52, s./n., p. 4669-4674.
- Oldoni, T. L. C. (2015) “Chemical Characterization and Optimization of the Extraction Process of Bioactive Compounds from Propolis Produced by Selected Bees *Apis mellifera*”. Journal of the Brazilian Chemical Society, [S.l.], v. 26, n. 10, p. 2054-2062.
- Park, Y. K. et al. (2000) “Determinação das Atividades Citotóxicas e Anti-HIV dos Extratos Etanólicos de Própolis Coletadas em Diferentes Regiões do Brasil”. Apacame, Campinas – SP, v. 52, s./n.
- Park, Y. K. et al. (2002) “Propolis Produced in South Brazil, Argentine and Uruguay: Phytochemical Evidence for the Plant Origin. Ciência Rural, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 997-1003.
- Pinto, L. M. A., Prado, N. R. T. e Carvalho, L. B. (2011) “Propriedades, Usos e Aplicações da Própolis”. Revista Eletrônica de farmácia, [S.l.], v. 8, n. 3, p. 76-100.
- Pontis, J. A. et al. (2014) “Color, Phenolic and Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of Honey from Roraima, Brazil”. Food Science and Technology, Campinas, v. 34, n. 1, p. 69-73.
- Rockenbach, I. I. et al. (2008) “Influência do Solvente no Conteúdo Total de Polifenóis, Antocianinas e Atividade Antioxidante de Extratos de Bagaço de Uva (*Vitis vinífera*)



- Variedades Tannat e Ancelota”. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 28, s./n., p. 238-244.
- Rufino, M. S. M. (2015) “Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +”, http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Cot_128.pdf, Novembro.
- Sousa, J. P. B. (2007) “Perfis Físico-químico e Cromatográfico de Amostras de Própolis Produzidas nas Microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil”. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 17, n. 1, p. 1-10.
- Souza, E. A. et al. (2010) “Propriedade Físico-química da Própolis em Função da Sazonalidade e Método de Produção”. *Archivos de Zootecnia*, [S.l.], v. 59, n. 228, p. 571-576.
- Torres, R. N. S. et al. (2008) “Constituintes Voláteis de Própolis Piauiense”. *Química Nova*, [S.l.], v. 31, n. 3, p. 479-485.
- Tylkowski, B. et al. (2010) “Extraction of Biologically Active Compounds from Propolis and Concentration of Extract by Nanofiltration”. *Journal of Membrane Science*, [S.l.], v. 348, s./n., p. 124-130.
- Trusheva, B., Trunkova, D. e Bankova, V. (2007) “Different Extraction Methods of Biologically Active Components from Propolis: A Preliminary Study”. *Chemistry Central Journal*, [S.l.], v. 1, n. 13, p. 1-4.