

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

Larissa Lôren de Souza

**CARACTERIZAÇÃO DA PRÓPOLIS VERDE DO SUDOESTE PAULISTA**

Buri

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

Larissa Lóren de Souza

**CARACTERIZAÇÃO DA PRÓPOLIS VERDE DO SUDOESTE PAULISTA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de São Carlos.

Orientação: Prof. Dra. Beatriz Camargo Barros de Silveira Mello

Financiamento: CNPq

Buri

2022

Souza, Larissa Lóren de

Caracterização da própolis verde do sudoeste paulista /  
Larissa Lóren de Souza -- 2022.  
11f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos,  
campus Lagoa do Sino, Buri  
Orientador (a): Beatriz Camargo Barros de Silveira Mello  
Banca Examinadora: Natan de Jesus Pimentel Filho,  
Angelo Luiz Fazani Cavallieri  
Bibliografia

1. Caracterização de própolis. 2. Compostos bioativos. 3.  
Atividade antioxidante. I. Souza, Larissa Lóren de. II.  
Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática  
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Lissandra Pinhatelli de Britto - CRB/8 7539

FOLHA DE APROVAÇÃO

**LARISSA LÓREN DE SOUZA**

CARACTERIZAÇÃO DA PRÓPOLIS VERDE DO SUDOESTE PAULISTA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de São Carlos. Buri, 02 de agosto de 2022.

Orientadora

---

Dra. Beatriz Camargo Barros de Silveira Mello

Universidade Federal de São Carlos

Examinador

---

Dr. Natan Pimentel de Jesus Filho

Universidade Federal de São Carlos

Examinador

---

Dr. Angelo Luiz Fazani Cavallieri

Universidade Federal de São Carlos

## **DEDICATÓRIA**

Dedico aos meus pais, Orlando e Eliana.

## AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus pelas oportunidades que tive, as quais somadas ao meu esforço me trouxeram até aqui. Agradeço aos meus pais por sempre me apoiarem, serem a minha estrutura em todos os momentos. Agradeço a minha irmã por sempre demonstrar o orgulho que tem de mim. Agradeço a professora Beatriz Camargo Barros de Silveira Mello que aceitou ser minha orientadora nesse projeto e com quem construí uma amizade.

Agradeço ao professor Natan Pimentel de Jesus Filho cujos ensinamentos tornaram possível as análises microbiológicas deste trabalho. Agradeço aos demais professores do *Campus* Lagoa do Sino por toda disponibilidade ao longo dos anos. Agradeço ao meu namorado Igor Lanciote pelo incentivo de sempre, por tornar a graduação mais leve para mim e ler meu trabalho infinitas vezes. Agradeço ao CNPq pelo financiamento da minha iniciação científica que levou a esse trabalho de conclusão de curso.

## **INTRODUÇÃO**

Este trabalho é resultado de uma iniciação científica, realizada na UFSCar *Campus* Lagoa do Sino no período de 2007/2018, financiada pelo CNPq. Trabalho que foi apresentado em três congressos, VI Congresso de Iniciação Científica do IFSP Itapetininga em 2018, XXV Congresso de Iniciação Científica (CIC) em 2018 e I Congresso Brasileiro Online de Ciências dos Alimentos (CONBRACA) em 2021. Tendo como consequência desse último evento a publicação do artigo na Revista Brasileira de Agrotecnologia. Dessa forma, este trabalho foi escolhido para ser apresentado como Trabalho de Conclusão de Curso.

A pesquisa apresentada neste artigo se construiu com base na caracterização da própolis verde do sudoeste paulista e na busca por produzir extratos com maiores concentrações de compostos fenólicos e flavonoides. Durante o desenvolvimento do trabalho foi possível também realizar análises de atividade antioxidante e antimicrobiana, além de estudar amostras de própolis verde e vermelha do nordeste brasileiro.

A região do sudoeste paulista conta com a presença de diversos apicultores. Sendo essa uma região com potencial para ser desenvolvida, demonstrar a qualidade da própolis produzida na região é uma forma de incentivar os apicultores a investir na produção, além de atrair olhares interessados no produto.



## CARACTERIZAÇÃO DA PRÓPOLIS VERDE PRODUZIDA NO SUDOESTE PAULISTA E COMPARAÇÃO COM AS PRÓPOLIS VERMELHA E VERDE DO NORDESTE BRASILEIRO

*Characterization of green propolis produced in the southwest of São Paulo and comparison with red and green propolis from Northeast of Brazil*

*Larissa Lóren de SOUZA<sup>1</sup>, Natan de Jesus PIMENTEL FILHO<sup>2</sup>, Beatriz Camargo Barros de Silveira MELLO<sup>3</sup>*

### RESUMO

A própolis é produzida por abelhas a partir de resinas de plantas adicionadas de suas secreções salivares, cera e pólen. No Brasil, as variedades encontradas (verde, marrom, vermelha) são classificadas em 13 grupos de acordo com a caracterização química. O objetivo deste trabalho foi determinar a caracterização química da própolis verde do Sudoeste Paulista, produzir extratos e caracterizá-los quanto a concentração de compostos fenólicos e flavonoides, atividades antioxidante e antimicrobiana. Ademais, comparar as propriedades da própolis verde do Sudoeste Paulista com as própolis verde e vermelha do Nordeste brasileiro, regiões com forte potencial apícola, mas com baixa produção de própolis. Realizou-se extração alcoólica, com variação de tempo, concentração de solvente e temperatura para produção dos extratos. A atividade antimicrobiana sobre *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foi determinada para os extratos com maior concentração de compostos fenólicos e flavonoides. O parâmetro resíduo insolúvel em metanol foi o único que ultrapassou os limites estabelecidos pela legislação. A melhor combinação para obter extratos com alta concentração de flavonoides para a própolis verde do Sudoeste Paulista é de 40°C utilizando-se álcool a 70%, por 7 dias. Todas as própolis apresentaram alta concentração de compostos fenólicos e a atividade sequestrante de DPPH das amostras variaram de 89,28% a 96,00%. Extratos com maiores concentrações de flavonoides apresentaram potencial ação antimicrobiana sobre *E. coli* e *S. aureus*. De modo geral, considerando as características avaliadas a própolis verde do Sudoeste Paulista apresentou-se superior as própolis verde e vermelha provenientes do Nordeste brasileiro.

**Palavras-chave:** própolis verde, própolis vermelha, atividade antioxidante, compostos fenólicos, flavonoides.

### ABSTRACT

Propolis is a bee product based on plants resins, bee's salivary secretions, wax and pollen. Brazilian varieties of propolis (green, red, brown) are divided 13 groups according to the chemical composition. This study aimed to determine the chemical characterization of green propolis from the Southwest of São Paulo, produce extracts, and characterize them in terms of phenolic and flavonoid compounds concentration, antioxidant and antimicrobial activities. Besides, the study compares the properties of green propolis from the Southwest of São Paulo with green and red propolis from the Brazilian Northeast, large producers of bee products, but not focused on propolis. It was produced ethanolic extracts, with the variables time, solvent (alcohol) concentration and temperature. The antimicrobial activity on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was determined for extracts with higher concentrations of phenolic and flavonoid compounds. The parameter insoluble residue in methanol was the only one out of the limits established by the law. Combining 40°C, alcohol 70% and 7 days were the best way to produce extracts of green propolis from southwest of São Paulo with higher concentrations of flavonoids. All propolis presented a high concentration of phenolic compounds and the DPPH sequestering ranged from 89.28% to 96.00%. Extracts with higher concentrations of flavonoid showed potential antimicrobial action on *E. coli* and *S. aureus*. In general, considering the characteristics evaluated, green propolis from the Southwest of São Paulo was superior to green and red propolis from Brazilian Northeast.

\*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 20/04/2021; aprovado em 05/06/2021

<sup>1</sup>Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de São Carlos, Buri, SP; [lloren0403@gmail.com](mailto:lloren0403@gmail.com) \*

<sup>2</sup>Doutor em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de São Carlos, [npimentel@ufscar.br](mailto:npimentel@ufscar.br)

<sup>3</sup>Doutora em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de São Carlos, [bia.mello@ufscar.br](mailto:bia.mello@ufscar.br)



**Key words:** green propolis, red propolis, antioxidant activity, phenolic compounds, flavonoids.

## INTRODUÇÃO

A própolis é uma mistura de substâncias resinosas e gomas coletadas pelas abelhas a partir de diversas partes de plantas, principalmente em brotos e cascas de árvores, acrescida de suas secreções salivares e enzimas (HARFOUCH et al., 2016; FALCÃO et al., 2013). Sua composição depende tanto da vegetação ao redor da colmeia, sendo que em uma mesma região pode haver variação da composição, quanto espécie de *Apis mellifera* produtora da própolis (KUMAZAWA et al., 2004; SFORCIN et al., 2000; SILICI; KUTLUCA, 2005).

Com respeito a diferença de composição referente a vegetação de origem, sabe-se que a própolis verde e vermelha apresentam em sua composição resinas de plantas distintas. A própolis verde apresenta majoritariamente resinas da *Baccharis dracunculifolia*, planta tipicamente brasileira conhecida popularmente como alecrim-do-campo, enquanto a própolis vermelha é constituída pela resinas de *Dalbergia ecastophyllum* (L.) Taub., conhecida popularmente como rabo-de-bugio e presente no litoral e regiões de mangue no nordeste brasileiro (PARK et al, 2002; SILVA et al, 2008; DAUGSCH et al, 2008).

Devido à natureza de seus constituintes, diversas propriedades têm sido atribuídas à própolis, tais como antibacteriana, antifúngica, antiviral, antioxidante, anti-inflamatória e anticarcinogênica (SFORCIN; BANKOVA, 2011; ANJUM et al, 2019). Estudos já identificaram mais de 300 substâncias presentes na própolis, dentre as quais se destacam os ácidos fenólicos e os flavonoides, responsáveis por grande parte das atividades terapêuticas (SALGUEIRO; CASTRO, 2016). Mesmo a própolis vermelha, que ainda é pouco conhecida quando comparada a verde, possui potencial para pesquisas voltadas à saúde (PONTES et al, 2008).

A região do Sudoeste Paulista é a segunda maior região de São Paulo na atividade de apicultura, responsável por 23% da produção estadual (FACHINI; OLIVEIRA; VEIGA FILHO, 2013). O Nordeste brasileiro é igualmente de grande potencial quando se trata de produtos apícolas, porém, assim como ocorre no Sudoeste Paulista, o foco está no mel (VIDAL, 2021). As própolis verde e vermelha, apesar de atraírem o interesse das indústrias de alimentos, cosméticos e fármacos ainda são um potencial não explorado devido à falta de conhecimento científico sobre elas (VIDAL, 2021). O interesse em estudar e trazer informações sobre essas própolis é justamente demonstrar sua importante representatividade nessas duas regiões e potencial para utilização, valorizando a forte atividade de apicultura presente.

O Brasil exporta anualmente, aproximadamente 70 toneladas de própolis, sendo que o Japão compra cerca de 80% deste volume (MARIANO, 2014). Na indústria de alimentos a própolis começou a ser usada como ingrediente e aditivo devido às suas propriedades biológicas, como a atividade bacteriostática, e, tem alcançado especial interesse das indústrias de fármacos e cosméticos (DEL RIO DEL ROSAL et al., 2017). Inclusive, no que diz respeito ao cenário mundial mais atual, já surgiram estudos para verificar a eficácia da atividade da própolis contra a infecção de Sars-Cov-2, o agente etiológico da COVID-19 (BERRETTA et al., 2020).

As mais diversas aplicações da própolis se dão principalmente pelo uso do produto na forma de extratos aquosos ou alcóolicos. O método de extração por maceração com uso de etanol como solvente é o mais utilizado para produção de extratos, devido a solubilidade da própolis em álcool (MARIANO, 2014). Para diminuir o tempo de extração, alguns fabricantes e pesquisadores fazem a extração a quente. Porém, algumas classes de flavonoides, principalmente os acilados, são sensíveis a elevadas temperatura e podem sofrer degradação durante o processo (STOBIECKI; KACHLICKI, 2006).

O presente trabalho teve como objetivo determinar as propriedades físico-químicas das própolis verde produzida no Sudoeste Paulista, verde do Nordeste e vermelha do Nordeste bem como produzir extratos e caracterizá-los quanto a concentração de compostos fenólicos e flavonoides e atividades antioxidante e antimicrobiana. Foi feita a comparação das propriedades da própolis verde produzida no Sudoeste Paulista com as própolis verde e vermelha provenientes da região Nordeste do Brasil, com o intuito de verificar as principais diferenças entre elas e qual tipo de própolis fornece extratos de maior atividade antioxidante e antimicrobiana, identificando a de melhor potencial com respeito a estas duas aplicações.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Própolis

As amostras de própolis verde do Sudoeste Paulista foram adquiridas de apicultores do município de Campina do Monte Alegre - SP, enquanto as própolis verde e vermelha provenientes do Nordeste do país foram adquiridas no Entrepósito de Mel e Cera de Abelhas BEE PROPOLIS BRASIL LTDA. As amostras foram homogeneizadas e armazenadas sob refrigeração a 4 °C.

## ANÁLISES REQUERIDAS PELA LEGISLAÇÃO

### Teor de cinzas

A análise foi realizada seguindo a metodologia descrita por Funari e Ferro (2006), com algumas adaptações. Para a análise de cinzas 2 g de própolis bruta foram pesadas e colocadas em cadinho de porcelana, aquecido previamente em mufla a 600 °C por 2 h, resfriado em dessecador e pesado. O conjunto, própolis e cadinho, foi levado a mufla, permanecendo pelo período necessário para que restassem apenas cinzas brancas. Após isso, o conjunto foi resfriado em dessecador para pesagem. O procedimento de aquecimento, resfriamento e pesagem foi repetido até que a massa se apresentasse constante (duas pesagens consecutivas com diferença de no máximo 5 mg). A análise foi realizada em triplicata e o teor de cinzas corresponde a razão entre massa de cinzas e massa inicial de própolis, em porcentagem.

### Obtenção de extratos por Soxhlet

A análise foi realizada seguindo a metodologia descrita por Funari e Ferro (2006). Para obtenção dos extratos de própolis por Soxhlet, aproximadamente 10 g de própolis bruta

foi acondicionada em cartucho de papel filtro, previamente seco em estufa a 105 °C por 1 h e pesado. Em balão volumétrico adicionou-se 250 mL de metanol e pedras de porcelana. O sistema foi mantido por 8 h em refluxo. Após resfriamento, o volume obtido foi medido e o extrato foi acondicionado ao abrigo da luz. O processo foi realizado em triplicata para realizar análises de resíduo insolúvel em metanol, teor de cera e resíduo seco em metanol.

#### **Resíduo insolúvel em metanol**

A análise foi realizada seguindo a metodologia descrita por Funari e Ferro (2006), com algumas adaptações. O cartucho usado na extração por Soxhlet continha, após a extração, substâncias não solúveis em metanol e por isso foi utilizado na análise de resíduo insolúvel em metanol. Resfriado após a extração, o cartucho foi colocado sobre vidro relógio, previamente pesado, e levado a estufa pré-aquecida a 105 °C por 2 h. O conjunto foi resfriado em dessecador e o cartucho foi pesado. Esse processo se repetiu com intervalos de 1 h até atingir massa constante (duas pesagens consecutivas com diferença máxima de 5 mg). A análise foi realizada em triplicata e o teor de resíduo insolúvel em metanol corresponde a razão entre a massa do resíduo no cartucho e a massa inicial de própolis, em porcentagem.

#### **Teor de cera**

A análise foi realizada seguindo a metodologia descrita por Funari e Ferro (2006), com algumas adaptações. Para analisar o teor de cera, o extrato obtido no Soxhlet foi levado a geladeira por 24 h, seguido por 30 min no freezer. Em seguida, a solução foi filtrada em funil de Buchner (com papel filtro seco e pesado previamente) sob vácuo e 400mmHg. A cera retida no papel filtro foi lavada com metanol resfriado até clarificação. O conjunto de filtro/cera foi levado a estufa previamente aquecida a 105 °C, por 2 h, resfriado em dessecador e pesado. O procedimento foi repetido com intervalos de 1 h até atingir massa constante (duas pesagens consecutivas com diferença máxima de 5 mg). A análise foi realizada em triplicata e o teor de cera corresponde a razão entre a massa de material retido no papel filtro e a massa inicial de própolis utilizada na extração, em porcentagem.

#### **Resíduo seco (sólidos solúveis em metanol)**

A análise foi realizada seguindo a metodologia descrita por Funari e Ferro (2006), com algumas adaptações. Para a análise de resíduo seco uma alíquota de 5 mL de extrato metanólico filtrado foi acondicionado em cápsula de porcelana (previamente aquecida em estufa a 105 °C por 2 h resfriada em dessecador e pesada). O conjunto foi levado a estufa aquecida a 105 °C, permanecendo por 2 h. Em seguida, ocorreu o resfriamento em dessecador e pesagem. O procedimento foi repetido com intervalos de 1 h até atingir massa constante (duas pesagens consecutivas com diferença máxima de 5 mg). A análise foi realizada em triplicata e o teor de resíduo seco (sólidos solúveis em metanol) corresponde a razão de massa na cápsula e a massa inicial de própolis utilizada na extração.

#### **Perda por dessecação a 150°C**

A análise foi realizada seguindo a metodologia descrita por Funari e Ferro (2006), com algumas adaptações. Colocou-se 1 g de própolis bruta em estufa (SL – 100, SOLAB) a 105 °C por 2 h. Em seguida, a amostra foi resfriada no dessecador e pesada (balança AUY220, SHIMADZU, UniBloc). O processo foi repetido até que as pesagens se mostraram estáveis (duas pesagens consecutivas com diferença máxima de 5 mg). A análise foi realizada em triplicata e a perda por dessecação a 105 °C foi calculada pela razão entre a massa do material volatilizado e a massa inicial de própolis, em porcentagem.

#### **Obtenção de extratos alcoólicos**

Para essa etapa definiu-se que seriam obtidos extratos alcoólicos variando três parâmetros do processo: concentração do solvente (etanol) (50, 70 e 90%), temperatura (30, 40 e 50°C) e tempo (3, 5 e 7 dias). Para controle da temperatura, utilizou-se banho termostato com temperatura ajustável (modelo CE - 160/10, CIENLAB). Pesou-se 1 g de própolis em pó, adicionou-se 5 mL do solvente e então a amostra foi levada ao banho termostato na temperatura e tempo preestabelecidos. Ao término do tempo de processamento, os extratos foram filtrados em papel filtro nº1 previamente pesados.

O extrato livre do resíduo de própolis foi armazenado ao abrigo da luz, para ser utilizado nas análises de compostos fenólicos e flavonoides e atividades antioxidante e antimicrobiana, e o papel-filtro com resíduo foi colocado em vidro relógio, levado para estufa a 105 °C por 2 h. Depois, foi resfriado em dessecador e pesado, procedimento repetido até que a massa se mantivesse constante (quando a diferença de duas pesagens consecutivas não excedeu 5 mg). Pela razão de massa retida no filtro e a massa inicial de própolis utilizada na extração, calculou-se o rendimento.

A variação de parâmetros resultou em 27 extratos diferentes em duplicata, totalizando-se 54 extratos. O método foi utilizado para a própolis verde do Sudoeste Paulista, e, após determinar as condições ótimas de extração, estas foram aplicadas para obter extratos das própolis verde e vermelha do Nordeste.

#### **Determinação de fenóis totais e flavonoides totais**

As determinações de polifenóis e de flavonoides no extrato de própolis foram feitas utilizando os métodos colorimétricos descritos por Alencar et al (2007) com algumas adaptações. Em tubos de ensaio foram adicionados 0,5 mL dos extratos diluídos em 1:20 com 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (1:10). Após 5 minutos, adicionou-se 2,0 mL de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) a 4%. As amostras foram homogeneizadas e mantidas ao abrigo da luz em temperatura ambiente por 2 h, seguida por leitura em espectrofotômetro a 740 nm. Para a curva padrão foi utilizada solução de ácido gálico diluída em água destilada na concentração de 1 a 100 µg/ml.

Para determinação de flavonoides, 0,5 mL dos extratos de própolis diluídos em 1:20 receberam 0,1 mL de cloreto de alumínio, 0,1 mL de acetato de potássio 1mol/L e 4,3mL de álcool etílico 80%. As amostras foram homogeneizadas e mantidas ao abrigo da luz a temperatura ambiente por 40 min, seguida por leitura em espectrofotômetro a 415 nm. Para a curva padrão foi utilizada solução de quercetina na concentração de 1 a 20 µg/ml.

## Atividade antioxidante

Para análise de atividade antioxidante foi realizada pela metodologia descrita por Cottica et al. (2011), com algumas adaptações.

A concentração dos extratos de própolis foi ajustada para 200mg/mL com utilização de álcool 70%. Em seguida, 4mL dos extratos foram adicionados em tubos contendo 1mL da solução alcoólica de DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) a 0,5mmol/L. A redução do DPPH foi monitorada pela diminuição da absorbância a 517nm até estabilizar. Solução de ácido ascórbico (1mM) foi utilizada como padrão. Para calcular a porcentagem de inibição dos extratos utilizou-se a fórmula 1.

$$PI(\%inibição) = \left[ \frac{A(0)-A(t)}{A(0)} \right] \times 100 \quad (1)$$

Onde:

A (0) é a absorbância da solução referência de DPPH-etanol (96%);

A (t) é a absorbância da solução DPPH-extrato etanólico de própolis após o tempo t em minutos.

## Atividade antimicrobiana

Utilizou-se o método de Bona et al. (2014) com algumas adaptações. Discos de filtro de papel de 5 mm de diâmetro foram esterilizados e impregnados em condições assépticas com 10 µL e de 15 µL de própolis. Os discos foram depositados com auxílio de pinça estéril sobre a superfície de ágar nutriente (KASVI, BRASIL) previamente inoculado com *Staphylococcus aureus* ATCC 13565 ou *Escherichia coli* ATCC 25922. Posteriormente, as placas foram incubadas a 35°C e após 24 horas, os halos de inibição foram medidos com auxílio de um paquímetro. O procedimento foi realizado para os 10 extratos de própolis verde produzida no Sudoeste Paulista que apresentaram as maiores concentrações de fenólicos e flavonoides além das amostras de própolis verde e vermelha provenientes do Nordeste brasileiro.

## ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguido por teste de média (Tukey) com significância de 5% utilizando-se o software estatístico R.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Análises requeridas pela legislação

Os resultados das análises gravimétricas são apresentados na Tabela 1 junto dos limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura.

A própolis verde do Sudoeste Paulista apresentou maior teor de cinzas, indicando assim um provável incremento de impurezas. Isso pode ter acontecido pois as própolis provenientes do Nordeste são comerciais, enquanto a própolis do Sudoeste Paulista não. Para a comercialização de própolis utiliza-se coletores nas caixas de abelha, melgueiras modificadas, que permitem coletar a própolis com menos impurezas e direcioná-la a uma etapa de limpeza presente no beneficiamento com objetivo de retirar todas as sujidades (BREYER; BREYER; CELLA, 2016).

O teor de ceras é baixo para os três tipos de própolis, quando comparado ao limite estabelecido. O resultado é bom, pois pode sinalizar alto teor de resinas, fração relacionada as atividades biológicas da própolis (FUNARI, 2005; FUNARI; FERRO, 2006).

Para os três tipos de própolis, apenas o resultado de resíduo insolúvel em metanol não se encontra dentro dos limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, sendo maior do que está determinado no regulamento técnico que define características para identidade da própolis (BRASIL, 2001).

**Tabela 1** – Resultados das análises gravimétricas e comparação ao estabelecido pela legislação

	Própolis verde / Sudoeste Paulista	Própolis verde / Nordeste brasileiro	Própolis vermelha / Nordeste brasileiro	Requisito do Ministério
Teor de cinzas (%)	3,00 ± 0,04	1,96 ± 0,02	0,66 ± 0,57	Máximo de 5,0 (%)
Perda por dessecação (%)	5,33 ± 2,56	7,36 ± 0,79	3,03 ± 1,01	Máximo de 8,0 (%)
Resíduo insolúvel (%)	51,07 ± 0,43	74,65 ± 0,23	46,28 ± 0,32	Máximo de 40,0 (%) <sup>3</sup>
Teor de cera (%)	4,11 ± 0,38	1,70 ± 0,21	2,59 ± 0,17	Máximo de 25,0 (%)
Resíduo seco (%)	72,84 ± 2,01	70,29 ± 2,05	40,54 ± 1,75	Mínimo de 35,0 (%)

<sup>1</sup>Valores expressos em porcentagem, sobre a massa de própolis (m/m). <sup>2</sup>Limites propostos pelo Ministério da Agricultura.

<sup>3</sup>Limite estabelecido para extratos obtidos com etanol.

## Compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante

Com a construção das curvas padrão de quercetina e ácido gálico obtidas nas concentrações de 1 a 100µg/ml e 1 a 20

µg/ml, respectivamente, foi possível chegar às concentrações de compostos fenólicos e flavonoides. A tabela 2 apresenta os teores de fenólicos e flavonoides encontrados para cada um dos extratos, sendo que a coluna “condições de extração” indica o valor de temperatura, concentração do solvente e tempo. A influência de temperatura, concentração de solvente e tempo de extração são parâmetros estudados na extração de fenólicos e flavonoides em diferentes matérias-primas, tal como a cana-de-açúcar (SOUZA-SARTORI et al., 2013).

As análises estatísticas demonstraram que para fenólicos havia a interação de tempo e temperatura, portanto, para determinar a melhor condição para produzir extratos com maior teor do composto deve-se analisar o binômio tempo temperatura. Quanto a teor de compostos flavonoides não há interação entre os fatores, o que possibilitou estabelecer a melhor combinação (tempo, temperatura e concentração de solvente) para obter extratos com maior teor de flavonoides, que foi do processo ocorrendo a 40°C, utilizando-se etanol a 70% por 7 dias.

Na temperatura de 50°C houve uma queda na concentração de flavonoides quando comparado a 30°C e 40°C, do mesmo modo que ocorreu para a concentração de fenólicos. Segundo Stobiecki e Kachlicki (2006), flavonoides acilados são termolábeis, fato que torna difícil sua obtenção e purificação sem que haja degradação parcial.

A atividade sequestrante de DPPH das amostras variaram de 90,66% a 95,97%, superiores aos extratos comerciais analisados por Alves e Kubota (2013), que relacionam a forte atividade antioxidante da própolis aos flavonoides, como quercetina, flavonas, isoflavonas, flavononas, antocianinas, catequinas e isocatequinas.

Para as própolis verde e vermelha do Nordeste os dados são apresentados na Tabela 3. A extração foi realizada apenas

sob as condições de 40°C, álcool a 70% durante 7 dias, que após análises de resultados da própolis verde do Sudoeste Paulista foi determinada como melhor condição de extração.

Comparando as própolis do Sudoeste Paulista com a própolis do Nordeste, nota-se que as própolis do Nordeste apresentaram as concentrações dos compostos de interesse em inferiores aos extratos de própolis verde do Sudoeste Paulista obtidos nas mesmas condições.

Apesar disso, a própolis verde do Nordeste apresentou atividade antioxidante superior aos 27 extratos de própolis verde do Sudoeste Paulista.

Uma hipótese para que isso tenha ocorrido é de que apesar do valor mais baixo, a classe de compostos esteja concentrada em quercetina, flavonas, isoflavonas, flavononas, antocianinas, catequinas e isocatequinas, que como dito anteriormente estão relacionados à forte atividade antioxidante da própolis (ALVES; KUBOTA, 2013).

Algo que explica as diferenças entre as própolis é a origem distinta e o fato de não pertencerem ao mesmo grupo de classificação. Nos anos 2000 a própolis brasileira foi separada em 12 grupos, baseados em sua caracterização química, sendo que a própolis verde ou marrom esverdeado do Sudeste do Brasil faz parte do grupo 12 e a própolis verde ou marrom esverdeado do Nordeste faz parte do grupo 7, enquanto para a própolis vermelha do Nordeste foi criado posteriormente um novo grupo de classificação, o grupo 13 (LUSTOSA et al., 2008; COSTA et al., 2013).

Como Lustosa et al (2008) aborda em seu trabalho, o que deve ser feito a partir do conhecimento sobre os tipos desse produto é estudar a relação da composição química e atividade biológica de cada extrato de própolis e alinhá-los à aplicação terapêutica adequada.

**Tabela 2** – Conteúdos totais de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante nos extratos da própolis verde do Sudoeste Paulista.

Extrato	Condições de extração	Fenólicos (mg de ácido gálico/100g)	Flavonoides (mg de quercetina/100g)	Sequestrante de DPPH (%)
1	30(°C), 50(%), 3 (dias)	4,91 <sup>B</sup> ± 1,94	59,63 <sup>A</sup> ± 27,46	92,27 <sup>B</sup> ± 0,86
2	30(°C), 50(%), 5 (dias)	9,21 <sup>AB</sup> ± 1,99	71,74 <sup>A</sup> ± 9,85	90,66 <sup>B</sup> ± 2,02
3	30(°C), 50(%), 7 (dias)	17,3 <sup>A</sup> ± 1,19	73,25 <sup>A</sup> ± 9,15	91,79 <sup>B</sup> ± 1,46
4	30(°C), 70(%), 3 (dias)	8,70 <sup>B</sup> ± 1,31	56,63 <sup>A</sup> ± 40,05	94,93 <sup>A</sup> ± 0,67
5	30(°C), 70(%), 5 (dias)	5,24 <sup>AB</sup> ± 0,61	78,51 <sup>A</sup> ± 3,08	93,80 <sup>A</sup> ± 1,20
6	30(°C), 70(%), 7 (dias)	16,23 <sup>A</sup> ± 0,77	117,19 <sup>A</sup> ± 11,04	94,52 <sup>A</sup> ± 0,40
7	30(°C), 90(%), 3 (dias)	3,96 <sup>B</sup> ± 0,50	68,09 <sup>A</sup> ± 10,09	93,64 <sup>AB</sup> ± 0,71
8	30(°C), 90(%), 5 (dias)	10,94 <sup>AB</sup> ± 1,77	94,18 <sup>A</sup> ± 1,06	94,53 <sup>AB</sup> ± 1,09
9	30(°C), 90(%), 7 (dias)	17,11 <sup>B</sup> ± 2,07	93,39 <sup>A</sup> ± 6,45	93,00 <sup>AB</sup> ± 0,67
10	40(°C), 50(%), 3 (dias)	15,64 <sup>B</sup> ± 4,80	104,86 <sup>A</sup> ± 6,79	93,96 <sup>B</sup> ± 0,26
11	40(°C), 50(%), 5 (dias)	13,60 <sup>AB</sup> ± 0,93	98,10 <sup>A</sup> ± 9,39	92,68 <sup>B</sup> ± 0,71
12	40(°C), 50(%), 7 (dias)	20,95 <sup>A</sup> ± 4,15	117,25 <sup>A</sup> ± 9,41	91,79 <sup>B</sup> ± 1,62
13	40(°C), 70(%), 3 (dias)	9,13 <sup>B</sup> ± 3,60	73,49 <sup>A</sup> ± 28,10	94,20 <sup>A</sup> ± 0,81
14	40(°C), 70(%), 5 (dias)	11,52 <sup>AB</sup> ± 0,03	97,19 <sup>A</sup> ± 0,16	93,80 <sup>A</sup> ± 0,36
15	40(°C), 70(%), 7 (dias)	18,05 <sup>A</sup> ± 2,90	121,01 <sup>A</sup> ± 4,58	93,32 <sup>A</sup> ± 0,36
16	40(°C), 90(%), 3 (dias)	9,46 <sup>B</sup> ± 0,39	75,43 <sup>A</sup> ± 13,50	94,12 <sup>AB</sup> ± 0,71

17	40(°C), 90(%), 5 (dias)	7,90 <sup>AB</sup> ± 0,05	61,38 <sup>A</sup> ± 0,22	92,27 <sup>AB</sup> ± 1,81
18	40(°C), 90(%), 7 (dias)	13,36 <sup>A</sup> ± 3,39	86,29 <sup>A</sup> ± 4,24	94,28 <sup>AB</sup> ± 0,48
19	50(°C), 50(%), 3 (dias)	9,35 <sup>B</sup> ± 0,42	13,03 <sup>B</sup> ± 2,14	93,88 <sup>B</sup> ± 1,32
20	50(°C), 50(%), 5 (dias)	16,43 <sup>AB</sup> ± 3,91	32,81 <sup>B</sup> ± 9,35	94,04 <sup>B</sup> ± 0,58
21	50(°C), 50(%), 7 (dias)	14,28 <sup>A</sup> ± 2,21	27,79 <sup>B</sup> ± 7,42	92,99 <sup>B</sup> ± 0,41
22	50(°C), 70(%), 3 (dias)	10,98 <sup>B</sup> ± 0,64	27,35 <sup>B</sup> ± 4,06	95,09 <sup>A</sup> ± 1,16
23	50(°C), 70(%), 5 (dias)	16,89 <sup>AB</sup> ± 2,30	34,15 <sup>B</sup> ± 2,26	95,01 <sup>A</sup> ± 1,85
24	50(°C), 70(%), 7 (dias)	13,39 <sup>A</sup> ± 2,51	38,90 <sup>B</sup> ± 1,82	95,97 <sup>A</sup> ± 1,13
25	50(°C), 90(%), 3 (dias)	11,03 <sup>B</sup> ± 1,24	23,90 <sup>B</sup> ± 2,48	93,72 <sup>AB</sup> ± 0,43
26	50(°C), 90(%), 5 (dias)	10,36 <sup>AB</sup> ± 0,50	31,43 <sup>B</sup> ± 8,42	90,98 <sup>AB</sup> ± 7,18
27	50(°C), 90(%), 7 (dias)	8,51 <sup>A</sup> ± 5,04	32,14 <sup>B</sup> ± 2,40	94,52 <sup>AB</sup> ± 1,09

Os resultados acima são a média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna representam que não houve diferença significativa  $p < 0,5$ .

**Tabela 3** – Conteúdos totais de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante nos extratos das própolis verde e vermelha do Nordeste

Própolis	Fenólicos (mg de ácido gálico/100g)	Flavonoides (mg de quercetina/100g)	Sequestrante de DPPH (%)
Verde	17,14 ± 0,69	43,46 ± 3,13	96,00 ± 0,68
Vermelha	6,372 ± 0,32	35,57 ± 1,16	89,28 ± 1,13

#### Atividade antimicrobiana

Os resultados dos halos de inibição foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey a 95%. Os resultados das análises dos halos de inibição podem ser observados na Tabela 4.

Não houve diferença significativa entre as diferentes concentrações utilizadas (10 µL e 15 µL), explicado pela possível capacidade de absorção dos filtros, inferior a 15 µL. De acordo com Cushnie e Lamb (2005), soluções contendo flavonoides foram utilizadas ao longo dos séculos por médicos e curandeiros na tentativa de curar doenças humanas, e, a ação antimicrobiana da própolis se deve principalmente aos seus flavonoides galandina e pinocembrina.

Todos os extratos testados apresentaram halo de inibição sobre *S. aureus* e *E. coli*, assim como observado por Kalogeropoulos et al. (2009) ao estudarem diversos extratos

etanólicos de própolis para inibição dessas duas bactérias. Tosi et al. (2007) também verificou a inibição de *E. coli* ao utilizar extratos etanólicos de própolis. Dentre seus extratos testados apresentaram maior halo de inibição os que tinham em sua composição altas porcentagens de ácido cumárico, ácido síringico, quercetina, galandina, ácido cafeico e outros compostos não identificados. Lu et. al (2005) verificou a ação antibacteriana de extratos de própolis contra *S. aureus*, caracterizando o produto como um potencial antimicrobiano para preservação de alimentos.

Assim, os resultados obtidos por essa análise corroboram com estudos realizados em relação ao poder de inibição da própolis sobre os patógenos de origem alimentar *E. coli* e *S. aureus* e permitem suposições sobre a composição de fenólicos e flavonoides da própolis baseado no que se tem de informação sobre compostos com atividade antimicrobiana.

**Tabela 4** – Efeito de extratos alcoólicos de própolis sobre *S. aureus* e *E. coli*.

Halo de inibição (mm)		
<i>S. aureus</i>		
	10 µl	15 µl
Extrato	Média	Média
30(°C), 90(%), 5 (dias)	2,62 <sup>C</sup> ± 0,54	3,49 <sup>B</sup> ± 0,64
30(°C), 70(%), 7 (dias)	5,76 <sup>A</sup> ± 0,83	4,50 <sup>AB</sup> ± 0,71
30(°C), 50(%), 7 (dias)	4,6 <sup>ABC</sup> ± 0,85	4,68 <sup>AB</sup> ± 0,47

30(°C), 90(%), 7 (dias)	2,81 <sup>C</sup> ± 0,78	3,61 <sup>B</sup> ± 0,50
40(°C), 90(%), 3 (dias)	4,67 <sup>ABC</sup> ± 0,76	4,69 <sup>AB</sup> ± 0,45
40(°C), 70(%), 7 (dias)	5,45 <sup>AB</sup> ± 0,68	6,24 <sup>A</sup> ± 0,87
40(°C), 90(%), 7 (dias)	3,66 <sup>AB</sup> ± 0,57	4,20 <sup>AB</sup> ± 1,02
50(°C), 70(%), 5 (dias)	3,28 <sup>BC</sup> ± 0,11	4,27 <sup>AB</sup> ± 0,11
50(°C), 90(%), 5 (dias)	3,69 <sup>ABC</sup> ± 0,70	5,10 <sup>AB</sup> ± 1,08
50(°C), 90(%), 7 (dias)	4,28 <sup>ABC</sup> ± 1,04	4,66 <sup>AB</sup> ± 0,65
Verde Nordeste	4,43 <sup>ABC</sup> ± 0,31	5,1 <sup>A</sup> ± 0,14
Vermelha Nordeste	4,73 <sup>ABC</sup> ± 0,15	3,4 <sup>B</sup> ± 0,14
<i>E. coli</i>		
30(°C), 90(%), 5 (dias)	3,32 <sup>BCD</sup> ± 1,04	3,90 <sup>BCD</sup> ± 0,70
30(°C), 70(%), 7 (dias)	5,71 <sup>AB</sup> ± 0,63	5,77 <sup>AB</sup> ± 0,89
30(°C), 50(%), 7 (dias)	4,79 <sup>BC</sup> ± 0,60	4,79 <sup>BC</sup> ± 0,64
30(°C), 90(%), 7 (dias)	4,21 <sup>BCD</sup> ± 1,02	4,68 <sup>BC</sup> ± 0,46
40(°C), 90(%), 3 (dias)	4,52 <sup>BC</sup> ± 1,14	5,70 <sup>B</sup> ± 0,45
40(°C), 70(%), 7 (dias)	7,86 <sup>A</sup> ± 0,70	7,57 <sup>A</sup> ± 0,70
40(°C), 90(%), 7 (dias)	4,81 <sup>BC</sup> ± 0,56	5,72 <sup>B</sup> ± 0,58
50(°C), 70(%), 5 (dias)	4,98 <sup>BC</sup> ± 0,62	5,55 <sup>B</sup> ± 0,57
50(°C), 90(%), 5 (dias)	5,00 <sup>ABC</sup> ± 0	5,06 <sup>BC</sup> ± 0,65
50(°C), 90(%), 7 (dias)	4,59 <sup>BC</sup> ± 1,17	4,76 <sup>BC</sup> ± 0,62
Verde Nordeste	2,06 <sup>D</sup> ± 0,32	2,40 <sup>D</sup> ± 0,35
Vermelha Nordeste	2,8 <sup>CD</sup> ± 0,40	3,50 <sup>CD</sup> ± 0,50

ANOVA one-way seguido de Teste de Tukey 95%. Letras diferentes na mesma coluna significam diferença significativa para  $p < 0,05$ .

## CONCLUSÕES

Os três tipos de própolis estudadas apresentaram resultados semelhantes nas análises físico-químicas e atendem aos requisitos legislativos, exceto pelo resíduo insolúvel, pois nesse quesito própolis de ambas as origens apresentaram valores acima do limite estabelecido pelo Ministério da Agricultura. O fator resíduo insolúvel em metanol relaciona-se normalmente com a solubilidade da própolis no solvente, e não implica em falta de qualidade ou adulteração.

Quanto a determinação da melhor condição para produção dos extratos com elevados teores de fenólicos e flavonoides, chegou-se a três conclusões: para se obter o maior teor de fenólicos é necessário observar o binômio tempo temperatura, devido a interação verificada na análise estatística; para obter alto teor de flavonoides a melhor condição é a extração a 40 °C utilizando álcool 70% durante o período de 7 dias; e, por fim, nas melhores condições de extração, a própolis verde do Sudoeste Paulista foi a que

apresentou extratos mais concentrados em fenólicos e flavonoides, mostrando seu potencial quando comparada às própolis verde e vermelha do Nordeste brasileiro.

As atividades antioxidante e antimicrobiana observadas são úteis no que diz respeito a conservação de alimentos, comprovando o potencial do produto para a indústria de alimentos, bem como fármacos e cosméticos em diferentes aplicações. Tais constatações podem servir de incentivo aos apicultores para maior produção e venda de própolis.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao PIBIC/CNPq/UFSCar (Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica) pela bolsa de iniciação científica concedida durante o período de agosto/2017 a agosto/2018 ao projeto de pesquisa “Estudo de extração da própolis verde do Sudoeste Paulista e caracterização das soluções obtidas em relação à atividade

antioxidante”. Os resultados obtidos compõem grande parte do presente artigo.

## REFERÊNCIAS

- ALENCAR, S. M.; OLDONI, T. L. C.; CASTRO, M. L.; CABRAL, I. S. R.; COSTA-NETO, C. M.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L.; IKEGAKI, M. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 113, n.2, p. 278-283, 2007.
- ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 34 n.1, p. 37-41, 2013.
- ANJUM, S. I.; ULLAH, A.; KHAN, K. A.; ATTAULLAH, M.; KHAN, H.; ALI, H.; BASHIR, M. A.; TAHIR, M.; ANSARI, M. J.; GHRAH, H. A.; ADGABA, N.; DASH, C. K. Composition and functional properties of própolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v.26, n.7, p. 1695-1703, 2019.
- BERRETTA, A. A.; DUARTE SILVEIRA, M. A.; CÓNDROR CAPCHA, J. M.; DE JONG, D. Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and COVID-19 disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v.131, p. 2-16, 2020.
- BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cm) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.81, n.3, p. 218-225, 2014.
- BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Instrução Normativa no. 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. *Diário Oficial União; Poder Executivo*, 2001.
- BREYER, H. F. E.; BREYER, E. D. H.; CELLA, I. Produção e beneficiamento da própolis. Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina. *Boletim técnico*, 138, p.31, 2016.
- COSTA A. S.; MACHADO B. A. S.; UMSZA-GUEZ M. A.; CIRQUEIRA M. G.; NUNES S. B.; PADILHA F. F. Survey of studies with propolis produced in the state of Bahia, Brazil. *Sitientibus: Ciências Biológicas*, v.13, p.1-7, 2013.
- COTTICA, S. M.; SAWAYA, A. C. H. F.; EBERLIN, M. N.; FRANCO, S. L.; ZEOULA, L. M.; VISENTAINER, J. V. Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.22, n.5, p.929-935, 2011.
- CUSHNIE, T.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v.26, n.5, p.343 – 356, 2005.
- DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PARK, Y. K. Brazilian red propolis – chemical composition and botanical origin. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, v.5, n.4, p.435-441, 2008.
- DEL RÍO DEL ROSAL, E.; CASAS, V. A.; GÓMEZ, M. E. T.; GIL, J. G.; ABDALA, R. D.; FIGUEROA, F. L. Study on the antioxidant and antitumoral activity of propolis. *Ars Pharmaceutica* [online], v.58, n.2, p.75-81, 2017.
- FACHINI, C.; OLIVEIRA, M. D. M.; VEIGA FILHO, A. A. Análise econômica da produção de mel segundo diferentes perfis em Capão Bonito, estado de São Paulo. *Informações econômicas*, v.43, n.1, p.29-42, 2013.
- FALCÃO, S. I.; VALE, N.; GOMES, P.; DOMINGUES, M. R. M.; FREIRE, C.; CARDOSO, M.; VILAS-BOAS, M. Phenolic Profiling of Portuguese Propolis by LC-MS Spectrometry: Uncommon Propolis Rich in Flavonoid Glycosides. *Phytochemical Analysis*, v. 24, n. 4, p. 309-318, 2013.
- FUNARI, C. S. Análise de própolis da Serra do Japi, determinação de sua origem botânica e avaliação de sua contribuição em processos de cicatrização. 2005. 138f. Dissertação (Mestrado em Insumos Farmacêuticos). - Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2005.
- FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, n.1, p. 171-178, 2006.
- HARFOUCH, R.M.; MOHAMMAD, R.; SULIMAN, H. Antibacterial activity of Syrian propolis extract against several strains of bacteria in vitro. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v.6, n.2, p. 42-46, 2016.
- KALOGEROPOULOS, N.; KONTELES, S. J.; TROULLIDOU, E.; MOURTZINOS, I.; KARATHANOS, V. T. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry*, v.116, n.2, p. 452-461, 2009.
- KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, v.84, n.3, p. 329-339, 2004.
- LU, L., CHEN, Y., & CHOU, C. Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, v.102, n.2, p. 213-220, 2005.
- LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDAU, K. P.; ROLIM NETO, P. J. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.18, n.3, p. 447-454, 2008.
- MARIANO, J. S. Extração e caracterização de dois tipos de própolis: verde (mineira) e vermelha (alagoana). 2014. 83f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Escola de engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2014.
- PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C.L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of agricultural and food chemistry*, v.50, n.9, p.2502-2506, 2002.

- PONTES, M. L. C.; VASCONCELOS, I. R.; DINIZ, M. F. F. M.; PESSÔA, H. L. F. Chemical characterization and pharmacological action of Brazilian red propolis. *Acta Brasiliensis*, v.2, n.1, p.34-38, 2018.
- SALGUEIRO, F. B.; CASTRO, R. N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. *Revista Química Nova*, v.39, n.10, p. 1192-1199, 2016.
- SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, v.133, n.2, p. 253-260, 2011.
- SFORCIN, J. M.; 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, n.1-2, p. 243-249, 2000.
- SILICI, S.; KUTLUCA, S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, v.99, n.1, p. 69-73, 2005.
- SILVA, B. B.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; IKEGAKI, M.; SOUZA, V. C.; ESTEVES, A.; ALENCAR, S. M. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, v.5, n.3, p.313-316, 2008.
- SOUZA-SARTORI, J. A.; SCALISE, C.; BAPTISTA, A. S.; LIMA, R. B.; AGUIAR, C. L. Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com atividade antioxidante total. *Bioscience Journal*, v.29, n.2, p. 297-307, 2013.
- STOBIECKI, M.; KACHLICKI, P. Isolation and Identification of Flavonoid. In: GROTEWOLD, E. (Ed.), *The Science of Flavonoids*. Ohio: The Ohio State University, 2006. cap.3, p. 47-69.
- TOSI, E. A.; RÉ, E.; ORTEGA, M. E.; CAZZOLI, A. F. Food preservative based on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*. *Food Chemistry*, v.103, n.3, p.1025-1029, 2007.
- VIDAL, M. F. Potencial da produção de própolis no Nordeste. *Caderno setorial – ETENE*, v.5, n.153, p.1-9, 2021