



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA  
SAÚDE

**Investigação da atividade antioxidante da própolis de abelha *Apis mellifera*: Uma revisão**

**Estudante:** Fernanda Baldomir da Cruz - 170009980

**Orientadora:** Profa. Dra. Yris Maria Fonseca-Bazzo

Brasília- DF

2021

FERNANDA BALDOMIR DA CRUZ

**Investigação da atividade antioxidante da própolis de abelha *Apis mellifera*: Uma revisão**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade de Brasília, como requisito parcial de obtenção do Título de Bacharel em Farmácia.

**Orientadora:** Profa. Dra. Yris Maria Fonseca-Bazzo

Brasília-DF

2021

“A ciência mostra a realidade independente do que nós achamos ou gostaríamos. Pois, com ela, a gente pode falar ‘faça-se luz’ e tornar o invisível visível, acreditando nele ou não.”

Iamarino, Átila.

Dedico este trabalho a minha mãe, Lucia Baldomir, que me ensinou minhas melhores qualidades.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Discente:** Fernanda Baldomir da Cruz

**Investigação da atividade antioxidante da própolis de abelha *Apis mellifera*: Uma revisão**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade de Brasília como requisito parcial para  
obtenção de grau Farmacêutico.

---

Profa. Dra. Yris Maria Fonseca-Bazzo

(Presidente) Universidade de Brasília

---

Dr. Diegue Henrique Nascimento Martins (Membro avaliador)

Universidade de Brasília

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Lucia Baldomir, que é a minha melhor amiga e é o melhor suporte na minha vida, sempre me incentivando a focar nos estudos e aproveitar todas as oportunidades que a Universidade tem a oferecer, sempre se sacrificando para que eu não precisasse me preocupar com qualquer outra coisa a não ser a busca por conhecimento.

À todos os meus amigos que a UnB me propiciou, conhecidos popularmente como “o grupinho insuportável da Farmácia”, os quais me aturaram nos meus piores momentos de estresse e de mal humor, e garantiram que a saúde mental não me abandonasse por completo. Em especial, um grande “obrigada” a Marina Dias, Edson Aliel e Carlito Junior, membros do D.I.V.A; conseguimos permanecer unidos até o fim, com um relacionamento baseado em confiança, risadas e muita fofoca.

Ainda, outros tantos companheiros que conheci ao longo desse caminho, formando o grupo Malakoias: Eduardo Guimarães, Paulo José, Anna Katharina, Andressa Sant’Ana, Kimberly Miranda, Kiara Isis e Mariana Bracciali. Mesmo que não tenhamos permanecido todos unidos até o fim, ainda me lembro com muito carinho de todos os momentos jogando peteca e verdade ou consequência, tomando sorvete, estudando enlouquecidamente no Cora ou no Amarelinho, fantasiando-nos todos juntos no Halloween...

Aos meus gatos, Black (provavelmente falecido) e Mia, por serem outra fonte inebriante anti-estresse – incontáveis vezes aquelas barriguinhas peludas me fizeram relaxar.

À minha família, que me abrigou em momentos estressantes de reforma - provavelmente, apresento essa monografia fora de casa. Um imenso e aliviado agradecimento ao Tio Marcos, que está super animado com a defesa desse trabalho. E, ainda, agradeço imensamente a Tia Kilma Pinheiro, já falecida, por sempre me incentivar no mundo da leitura; foi a única pessoa que ficou animada de verdade quando soube que eu passei em Farmácia.

À Professora Yris Maria Fonseca-Bazzo, que esteve comigo do início ao fim da minha jornada científica durante a graduação, ao me acolher por tantos anos e sempre acreditar no meu potencial. A professora Dâmaris Silveira, que me ofereceu a primeira chance de entrar no ramo da pesquisa científica. E a professora Pérola, a tão gentil membro

do laboratório.

A Juliana Ferreira, que está presente em cada linha desse trabalho, e de todos os outros que eu já fiz. Agradeço especialmente a paciência para aguentar minhas neuras e crises, e por me fazer uma cientista melhor.

Á toda equipe do Laboratório de Produtos Naturais e Controle de Qualidade, Mestrandos, Doutorandos, alunos de graduação, colaboradores, professores e técnicas, que me ensinaram que a pesquisa pode ser divertida e sempre estavam dispostos a me ajudar a não destruir o laboratório.

Á toda equipe da escola Instituto Educacional Santo Elias (IESE), na qual eu estudei uma parte considerável da minha vida, até o final do ensino médio. Aos amigos que eu conheci por lá, aos professores que sempre acreditaram em mim, que me deram oportunidades de entrar em um laboratório pela primeira vez, a me mostrar o mundo incrível as experiências... Em especial, deixo meu agradecimento ao meu professor de física, André Luis, a primeira pessoa que eu penso quando o assunto é conhecimento.

Por fim, às abelhas *Apis mellifera*, e todas as outras, por fazer desse planeta um local habitável.

## RESUMO

A própolis é um produto natural fabricado pelas abelhas a partir de materiais balsâmicos coletados de plantas que circundam a colmeia, passando por posterior modificação pelas enzimas desses insetos. Possui funções diversas na colmeia, tais como selar rachaduras, servir como material de construção e, principalmente, ação antimicrobiana. Baseada nisso, a medicina popular em todo o mundo fez uso dessa resina em suas práticas de saúde, e a pesquisa moderna volta seus olhos para materiais naturais, a fim de que se tornem fontes de novas moléculas, para tratar os mais diversos males. A explicação por trás das incontáveis ações atribuídas a própolis é o arsenal de moléculas que ela possui: cerca de 300 compostos. Isso varia de acordo com a flora que está próxima das abelhas, sazonalidade, método de coleta e de extração das amostras, bem como outros fatores diversos. Esse quadro torna difícil a padronização de métodos e marcadores que garantam a qualidade da própolis, dificultando seu uso na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia. A presente revisão bibliográfica teve como objetivo a coleta de informações sobre trabalhos que testam a atividade antioxidante da própolis, produzida pelas abelhas da espécie *Apis mellifera*, pelos diversos métodos disponíveis. Os 173 artigos escolhidos após minuciosas buscas trouxeram dados quantitativos e qualitativos sobre o positivo potencial desse produto natural na área de interesse. Isso traz evidências científicas, *in vitro* e *in vivo*, que apoiam a ideia da própolis ser uma boa candidata para a produção de novas formulações farmacêuticas e alimentícias no futuro, bem como informações mais detalhadas sobre o seu perfil químico tão diverso e as metodologias normalmente empregadas pelos pesquisadores.

**Palavras-chaves:** *Apis mellifera*, própolis, atividade antioxidante.

## ABSTRACT

Propolis is a natural product manufactured by bees from balsamic materials collected from plants that surround the hive, undergoing subsequent modification by the enzymes of these insects. It has several functions in the hive, such as sealing cracks, serving as a building material, and, mainly, antimicrobial action. Based on this, popular medicine around the world has used this resin in their health practices, and modern research turns its eyes to natural materials, so that they become sources of new molecules, to treat the most diverse ailments. The explanation behind the countless actions attributed to propolis is the arsenal of molecules it has: around 300 compounds. This varies according to the flora that is close to the bees, seasonality, method of collection and extraction of the samples, as well as other diverse factors. This makes it difficult to standardize methods and markers that guarantee the quality of propolis, making its use in the pharmaceutical, cosmetic and food industries difficult. The present literature review aimed to collect information on studies that test the antioxidant activity of propolis, produced by *Apis mellifera* bees, using the different methods available. The 173 articles chosen after a thorough search brought quantitative and qualitative data about the positive potential of this natural product in the area of interest. This brings scientific evidences, *in vitro* and *in vivo*, that support the idea that propolis is a good candidate for the production of new pharmaceutical and food formulations in the future, as well as more detailed information about its very diverse chemical profile and the methodologies normally employed by researchers.

Keywords: *Apis mellifera*, propolis, antioxidant activity.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b> Abelhas operárias africanas ( <i>Apis mellifera scutellata</i> ).....	21
<b>Figura 02</b> Exemplos de coloração que a própolis pode ser produzida. ....	37
<b>Figura 03</b> Constituintes químicos do 13º tipo de própolis brasileira (vermelha)....	40
<b>Figura 04</b> Etapas da transformação do oxigênio em água, gerando espécies parcialmente reduzidas. Também são mostradas as defesas antioxidantes enzimáticas.....	45
<b>Figura 05</b> Fluxograma de materiais obtidos, excluídos, duplicados e aproveitados da presente revisão bibliográfica. Adaptado de PRISMA.....	52
<b>Figura 06</b> Locais de coleta das amostras de própolis usadas nos experimentos dos trabalhos da presente revisão bibliográfica. ....	53
<b>Figura 07</b> Ano de publicação dos trabalhos que compõem o acervo da presente revisão bibliográfica.....	54
<b>Figura 08</b> Representação gráfica da nomenclatura da abelha utilizada em cada material dessa revisão. ....	55
<b>Figura 09</b> Denominação da época de coleta das amostras de própolis nos materiais dessa revisão bibliográfica .....	56
<b>Figura 10</b> Tipos de amostra de própolis utilizadas nas pesquisas dos trabalhos que compõem o acervo dessa revisão bibliográfica .....	59
<b>Figura 11</b> Exemplo de amostra de própolis verde coletada em um dos trabalhos da presente revisão bibliográfica.....	60
<b>Figura 12</b> Colheita da própolis com rede de plástico colocada no topo da colmeia.....	62
<b>Figura 13</b> Metodologias de extração das amostras de própolis (bruta ou cominuída) escolhidas pelos autores dos trabalhos que compõem essa revisão bibliográfica. ....	65

<b>Figura 14</b> Temperaturas explicitadas de forma numérica nas metodologias de extração das amostras de própolis presentes nessa revisão bibliográfica .....	68
<b>Figura 15</b> Tempo de extração das amostras de própolis escolhido pelos autores dos materiais selecionados para compor essa revisão.....	69
<b>Figura 16</b> Proporção (g/mL) entre a massa de amostra de própolis e volume de líquido extrator utilizado nos trabalhos da presente revisão bibliográfica .....	71
<b>Figura 17</b> Solventes utilizados pelos trabalhos dessa presente revisão, durante o processo de extração das amostras de própolis.....	72
<b>Figura 18</b> Proporções entre etanol e água escolhidas pelos autores dos materiais dessa revisão, a fim de performar os processos de extração das amostras de própolis .....	75
<b>Figura 19</b> Métodos <i>in vitro</i> utilizados pelos materiais que compõem o acervo da presente revisão bibliográfica .....	82
<b>Figura 20</b> Reação de redução do DPPH por uma espécie antioxidante.....	83
<b>Figura 21</b> Reação do radical AAPH no teste <i>ORAC</i> . .....	93
<b>Figura 22</b> Reação química demonstrando a formação de Fe <sup>2+</sup> (forma ferrosa) devido à redução de Fe <sup>3+</sup> (forma férrica) presente no complexo com TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina). .....	95
<b>Figura 23</b> Reação de redução do reagente de cobre (2 <sup>+</sup> ) na presença de um antioxidante, formando o quelato de cobre (1 <sup>+</sup> ), de coloração alaranjada.....	99
<b>Figura 24</b> Estabilização do radical ABTS <sup>•+</sup> por um antioxidante.....	100
<b>Figura 25</b> Processo esquemático do mecanismo de quelação de metais.....	114

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b> Algumas das substâncias químicas comumente presentes em amostras de própolis .....	34
<b>Tabela 02</b> Classificação da própolis brasileira segundo coloração, origem geográfica e botânica. Ainda, são apresentados dados de composição química .....	41
<b>Tabela 03</b> Resultados do teste de eliminação dos radicais DPPH de extratos de própolis de abelha <i>Apis mellifera</i> , obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....	85
<b>Tabela 04</b> Resultados do teste <i>ORAC</i> dos extratos de própolis de <i>Apis mellifera</i> obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....	94
<b>Tabela 05</b> Resultados do teste <i>FRAP</i> dos extratos de própolis de abelha <i>Apis mellifera</i> obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....	96
<b>Tabela 06</b> Resultados do teste <i>RP</i> dos extratos de própolis de abelha <i>Apis mellifera</i> obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....	98
<b>Tabela 07</b> Resultados do teste <i>CUPRAC</i> dos extratos de própolis de <i>Apis mellifera</i> obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....	100
<b>Tabela 08</b> Resultados do teste <i>ABTS</i> dos extratos de própolis de <i>Apis mellifera</i> obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....	102
<b>Tabela 09</b> Resultados do teste do sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico dos extratos de própolis de <i>Apis mellifera</i> obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....	105
<b>Tabela 10</b> Resultados das outras metodologias para avaliar peroxidação lipídica dos extratos de própolis de <i>Apis mellifera</i> obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....	109
<b>Tabela 11</b> Resultados do teste de voltametria dos extratos de própolis de <i>Apis mellifera</i> obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....	113
<b>Tabela 12</b> Resultados do teste de quelação de ferro obtidos dos extratos de própolis de <i>Apis</i>	

*mellifera* dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....115

**Tabela 13** Resultados do teste de avaliação da atividade enzimática dos extratos de própolis de *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....117

**Tabela 14** Resultados do teste de avaliação de sequestro de EROs e ERNs dos extratos de própolis de *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....119

**Tabela 15** Resultados do teste de avaliação da atividade antioxidante dos extratos de própolis de *Apis mellifera* por métodos variados obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica .....127

**Tabela 16** Estratégia de busca em cada base de dados escolhidas para esta revisão bibliográfica .....159

**Tabela 17** Dados da metodologia de coleta e informações das amostras dos 173 materiais usados na presente revisão bibliográfica .....161

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AAI	Índice de atividade antioxidante
AAPH	2,2'-Azobis(2-amidinopropano) dihidroclorido
ABTS	Sal diamônio 2,2'-Azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazoloneo-6-sulfônico)
a.C	Antes de Cristo
BHA	Butil Hidroxianisol
BHT	Butil Hidroxitolueno
B-PE	B-ficoeritrina
<i>CAPE</i>	<i>Caffeic Acid Phenetil Ester</i>
CAT	Catalase
CG	Cromatografia Gasosa
CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas
CI <sub>50</sub>	Concentração Inibitória Média
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
COX-1	Cicloxigenase-1
COX-2	Cicloxigenase-2
<i>CRD</i>	<i>Centre for Reviews and Dissemination</i> (Centro para Revisões e Disseminação)
<i>CUPRAC</i>	<i>Cupric Reducing Antioxidant Capacity</i> (Capacidade Antioxidante da Redução do Cobre)
DeCS	Descritores em Ciências da Saúde
DMSO	Dimetilsulfóxido
<i>DNA</i>	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (Ácido Desoxirribonucleico)
DNP	2,4-dinitrofenilhidrazina
DPPH•	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EAP	Extrato Aquoso de Própolis
EEP	Extrato Etanólico de Própolis
EMP	Extrato Metanólico de Própolis

<i>eNOS</i>	<i>Endothelial Nitric oxide synthase</i> (Óxido nítrico sintetase endotelial)
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EAG	Equivalente de Ácido Gálico
Fe <sup>2+</sup>	Íon Férrico
Fe <sup>3+</sup>	Íon Ferroso
FeSO <sub>4</sub>	Sulfato de Ferro
<i>FOX</i>	<i>Ferrous Oxidation-Xilenol Orange</i>
<i>FRAP</i>	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
FTC	Ferro Tiocianato
GPx	Glutaciona peroxidase
<i>GRAS</i>	<i>Generally Recognised as Safe</i>
GST	Glutaciona S-transferase
<i>HAT</i>	<i>Hydrogen atom transfer</i>
<i>HS-PME</i>	<i>Headspace Solid Phase Microextraction</i>
H <sub>2</sub> O	Água
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
<i>iNOS</i>	<i>Inducible Nitric oxide synthase</i> (Óxido Nítrico Sintetase Induzível)
<i>LDL</i>	<i>Low Density Protein</i> (Proteína de Baixa Densidade)
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
LOX	Lipoxigenase
MDA	Malondialdeído
<i>MEDLINE</i>	<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
<i>MESH</i>	<i>Medical Subject Headings</i>
MPO	Mieloperoxidase
<i>NADPH</i>	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NF-κB	Fator Nuclear kappa B
Nrf2	Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2
NO	Óxido nítrico
O <sub>2</sub>	Gás oxigênio

$O^{2-}$	Radical Superóxido
$^{\cdot}OH$	Hidroxila
$OH^{\cdot}$	Radical Hidroxila
OMS	Organização Mundial da Saúde
$ONOO^{\cdot-}$	Peroxinitrito
ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> (Capacidade de Absorbância do Radical Oxigênio)
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase)
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PG	Galato de Propila
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (Ácido ribonucleico)
$ROO^{\cdot}$	Hidroperoxila
RP	<i>Reducing Power</i>
RPE	R-ficoeritrina
SciELO	<i>Scientific Electronic Library Online</i>
SET	<i>Single electron transfer</i>
$^{\cdot}SH$	Grupo tiol
SNPAC	<i>Silver Nanoparticles Antioxidant Capacity</i>
SOD	Superóxido dismutase
Spp.	Espécies
SUS	Sistema Único de Saúde
TBQH	T-butil-hidroquinona
TEAC	<i>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity</i>
TEAP	<i>Total Electrochemical Antioxidant Power</i>
TPTZ	2,4,6-Tri(2-piridill)-s-triazina
%AA	Porcentagem da atividade antioxidante
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\mu$	Micro

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	18
1.1. <i>Apis mellifera</i> .....	20
1.2. Própolis .....	23
1.2.1 Histórico.....	25
1.2.2 Atividades biológicas e usos.....	27
1.2.3 Composição química.....	31
1.2.4 Tipos de própolis .....	36
1.3 Atividade antioxidante .....	44
2 OBJETIVOS .....	48
2.1 Objetivo geral .....	48
2.2 Objetivos específicos .....	49
3 PROCEDIMENTO METODOLÓGICO .....	49
3.1 Critérios de inclusão .....	49
3.2 Critérios de exclusão.....	49
3.3 Fontes de informações e estratégias de busca .....	50
3.4 Seleção dos estudos .....	50
4 RESULTADOS .....	51
4.1 Caracterização das produções .....	51
5 DISCUSSÃO .....	56
5.1 Época de coleta (sazonalidade).....	56
5.2 Tipos de própolis e fontes vegetais .....	58
5.3 Metodologia de coleta da própolis.....	62
5.4 Extração e formas farmacêuticas .....	63
5.5 Atividade antioxidante.....	78
5.5.1 Eliminação de radicais DPPH* (1,1-difenil-2-picrilidrazil) .....	83



5.5.2 ORAC ( <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> ).....	92
5.5.3 FRAP ( <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> ).....	94
5.5.4 <i>Reducing Power (RP)</i> .....	97
5.5.5 CUPRAC ( <i>Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity</i> ).....	99
5.5.6 ABTS ([ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico)]) .....	100
5.5.7 $\beta$ -Caroteno/Ácido Linoleico.....	105
5.5.8 Outras formas de análise de peroxidação lipídica.....	106
5.5.9 Testes em alimentos.....	110
5.5.10 Técnicas eletroquímicas: Voltametria .....	111
5.5.11 Quelação de metais .....	113
5.5.12 Atividade enzimática .....	115
5.5.13 Sequestro de EROs e ERNs .....	117
5.5.14 Testes em cultura celular .....	120
5.5.15 Testes <i>in vivo</i> .....	124
5.5.16 Outras metodologias .....	127
6 CONCLUSÃO .....	130
7 REFERÊNCIAS.....	131
8 ANEXOS .....	159
8.1 Anexo 01.....	159
8.2 Anexo 02.....	161

## 1. INTRODUÇÃO

Desde tempos imemoriais, a natureza tem sido fonte de moléculas amplamente usadas pelos seres humanos como repelentes de insetos, conservantes, corantes, armas, substâncias alucinógenas, dentre outros. Porém, um dos principais usos destinados aos produtos naturais é para o tratamento de enfermidades (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006; GOMES; 2017). Exemplos diversos podem ser citados ao redor do mundo, já que vários povos descobriram o grande arsenal químico que a natureza poderia ofertar.

Os microrganismos são fontes importantes de produtos naturais. O caso mais famoso de molécula obtida através desses seres é a penicilina, isolada “acidentalmente” de fungos do gênero *Penicillium*. Foi uma revolução no quesito de antibióticos, a qual salvou a vida de inúmeras pessoas (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Soma-se aos microrganismos, ainda, os produtos naturais provenientes de animais, na chamada zooterapia. Porém, são escassos os trabalhos sobre esse assunto no Brasil e no mundo, já que muitas vezes os estudos com animais foram preteridos em relação à pesquisa vegetal. Não somente a medicina etnotradicional se beneficia desse último segmento do conhecimento terapêutico, como também a indústria farmacêutica moderna (COSTA-NETO, 1999; SILVA, 2010).

É inegável que uma das maiores fontes de produtos naturais encontradas são as plantas, seja *in natura* ou em preparações galênicas, como extratos (PANDOLFO, 2014), além de contribuir com a obtenção de moléculas que são usadas como novos agentes terapêuticos (DE LIMA *et al.*, 2019b). Há séculos, o ópio, extraído dos bulbos da planta *Papaver somniferum*, é usado como anestésico (GOMES, 2017); a partir de novos estudos, diversos alcaloides com menor potencial de dependência foram criados e até hoje são destinados ao uso médico. Pode-se citar, ainda, o isolamento da quinina de uma espécie de *Cinchona*, para o tratamento de malária, e a descoberta dos salicilatos, advindos da espécie vegetal *Salix alba*, como importantes anti-inflamatórios (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Segundo trabalhos publicados no ano de 2006, há indicativo de alta porcentagem de prescrições, nos Estados Unidos, de princípios ativos com origem natural, principalmente

aqueles provenientes de plantas superiores (25%) (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Além disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que cerca de 80% da população dos países em desenvolvimento (cerca de 4 bilhões de pessoas) beneficiam-se do uso de medicina tradicional como principal fonte, o que torna o comércio de produtos naturais uma área de interesse para a indústria farmacêutica (GOMES, 2017; KALTHOFF; STRASSBURG, 2019).

Outro ponto importante são as políticas de saúde pública implementadas com foco em plantas medicinais. Tomando como exemplo o Brasil, a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) usa como base o conhecimento tradicional e tenta inserir nas práticas de promoção de saúde produtos fitoterápicos (DE MENDONÇA, 2014; GOMES, 2017).

Soma-se a isso o uso de plantas medicinais ter a capacidade de garantir o cumprimento de um dos “Objetivos de Desenvolvimento Sustentável”: assegurar o acesso de medicamentos a toda a população. Isso se deve a enorme biodiversidade natural existente no Brasil e no mundo, e a possibilidade de se expandir as oportunidades de oferta de novas moléculas, com apoio aos produtores regionais. Ainda, existe uma preocupação global com o processo produtivo, a fim de que se torne mais amigável com o meio ambiente, além de ser econômica e socialmente viável: o chamado desenvolvimento sustentável (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; HASENCLEVER *et al.*, 2017).

Nesse contexto, abundantes pesquisas da área farmacêutica são intrínsecas aos produtos naturais, visando a elaboração de novas formulações com propriedades farmacológicas adequadas, cosméticos, e produtos químicos que ajudem a melhorar a qualidade de vida da população (CRAGG; NEWMAN, 2013; PATRIDGE *et al.*, 2016). Essa busca floresceu em resultados: até 1994, nos Estados Unidos, 78% dos novos antibióticos e 61% dos novos antitumorais eram advindos de produtos naturais (KOO *et al.*, 2002).

Diante das informações apresentadas, a própolis produzida pela espécie de abelha *Apis mellifera* torna-se um alvo interessante, bem como um recurso valioso na busca de novos fármacos.

### 1.1. *Apis mellifera*

A ordem Hymenoptera possui como um de seus principais grupos o monofilético Aculeata, que inclui formigas, vespas e abelhas. Tem como característica modificações do ovopositor dos insetos fêmeas para ferrões (CALEGARI, 2018). O gênero *Apis*, único gênero da Tribo *Apini*, da ordem Hymenoptera, tem sua origem na Eurásia tropical, e migrou para diversas partes do planeta. Dentro dele, existem 10 espécies de abelhas, sendo quatro delas tradicionais: a abelha melífera gigante (*Apis dorsata*), a pequena abelha melífera (*Apis florea*), a abelha melífera oriental (*Apis cerana*), e a abelha melífera ocidental (*Apis mellifera*) (DA SILVA; DA SILVA, 2007; DE SOUZA, 2016; HUANG *et al.*, 2014).

São seres altamente sociais, que vivem em colônias, em uma sociedade avançada, organizada em castas (WILSON, 1961). Há uma única rainha, responsável pela postura dos ovos, cerca de 60.000 trabalhadoras, todas fêmeas, e até 400 zangões por colônia. As abelhas operárias são responsáveis pela manutenção da homeostase da colmeia (PANDOLFO, 2014), e os zangões, pela fecundação dos ovos da abelha rainha (ADELMAN, 2005).

As abelhas da espécie *Apis mellifera*, também chamadas de “abelhas ocidentais” ou “abelhas europeias” (BONAMIGO *et al.*, 2017), tem sua origem provável na Ásia, Oriente Médio ou África, com globalização em todos os continentes, sendo exceção apenas nas áreas polares (CRANE, 1999). Chegaram na América por intervenção humana, por volta de 1622, devido a sua capacidade de produção de mel (CRANE, 1999; HONEYBEE GENOME SEQUENCING CONSORTIUM *et al.*, 2006; DE SOUZA, 2016). Durante essas migrações, diversos grupos regionais e variações da espécie surgiram, baseados no habitat, clima e vegetação preferida por cada subespécie: Savana, florestas tropicais, deserto, regiões litorâneas e montanhosas (ADELMAN, 2005; DA SILVA; DA SILVA, 2007). Como exemplos, podemos citar as abelhas italianas *Apis mellifera lingustica* e *aurea*, bem como a africana, *Apis mellifera scutellata*, conhecida pela agressividade (Figura 01) (DE SOUZA, 2016). Sabe-se que existem 25 subespécies de *A. mellifera* (HUANG *et al.*, 2014).

Ocorreu, ainda, miscigenação entre as raças; no Brasil, houve o escape de abelhas africanas (*A. mellifera scutellata*) de suas colmeias controladas, que se reproduziram com as raças europeias, formando um híbrido que hoje é chamado de “abelha africanizada” (PANDOLFO, 2014; CALEGARI, 2018). Inicialmente, essa ocorrência foi vista como

negativa, devido a agressividade da nova raça e a sua inclinação para enxameamento; inclusive, houve morte de pessoas e animais, culminando no descarte da atividade apícola por muitos apicultores. Porém, novos estudos na área trouxeram vantajosas perspectivas (CALEGARI, 2018). Embora essa nova raça de abelha seja muito agressiva, possui a vantagem de ser muito produtiva (própolis e mel), inclusive em temperaturas mais baixas, além de serem resistentes a doenças e a escassez de alimentos (ADELMAN, 2005; PANDOLFO, 2014). Ainda, possuem ótima adaptação a diversos habitats, com habilidades migratórias (PANDOLFO, 2014), e são ótimas polinizadoras (ADELMAN, 2005; FERREIRA, 2019). Por fim, a melhoria nas técnicas de criação desses insetos permitiu um melhor controle dos apicultores sobre as abelhas e a criação voltou a ocorrer na década de 70 (CALEGARI, 2018).



**Figura 01** Abelhas operárias africanas (*Apis mellifera scutellata*). Fonte: Adaptado de DA SILVA; DA SILVA, 2007.

Existem quatro raças com conhecido valor econômico: *Apis mellifera mellifera* (abelha alemã), *Apis mellifera ligustica* (abelha italiana), *Apis mellifera carnica* (abelha carniola) e *Apis mellifera caucasica* (RUTTNER, 1986; TIVERON, 2015; FERREIRA, 2019).

Uma função de destaque primordial desses insetos é a polinização (PANDOLFO, 2014), ou seja, o processo de movimento do pólen de uma flor a outra, seja em plantas diferentes ou entre flores da mesma planta. Sabe-se que essa é uma atividade que tais insetos vêm realizando por mais de 100 milhões de anos (PUSPHA; REDDY, 2019). É uma ação

essencial na manutenção da biodiversidade gênica das plantas, principalmente as de interesse agrícola – as abelhas melíferas são vistas como as melhores polinizadoras para muitas espécies vegetais (DA SILVA; DA SILVA, 2007; DE SOUZA, 2016), principalmente as fêmeas, já que possuem excelente memória de odor e reconhecimento de cor, além de serem fiéis em suas coletas e precisarem do pólen como fonte de proteínas e alimento para as larvas (CALEGARI, 2018), fazendo com que a polinização seja uma atividade simbiótica entre as abelhas e as plantas (PRASNIEWSKI, 2015).

Tendo isso em vista, é preocupante o aumento de estudos indicando a diminuição do número de colônias e indivíduos polinizadores, visto que a quantidade de plantas dependentes da polinização por insetos cresceu quase 300% desde 1961 – as abelhas são vistas como uma das bases principais para manter a produção agrícola mundial (ADELMAN, 2005; CALEGARI, 2018). Surge um alerta global para monitorar os fatores que levam a destruição dessas espécies, tais como uso excessivo de defensivos agrícolas, queimadas, doenças diversas, parasitas, desmatamento, aquecimento global e esgotamento de espécies, todos contribuindo de modo sinérgico para o cenário atual (CALEGARI, 2018). A isso, soma-se outra questão ecológica: a capacidade do trabalho das abelhas no combate as mudanças climáticas. Sabe-se que 1 kg de mel produzido neutraliza até 16 mg de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) lançados na atmosfera (DA SILVA, 2018).

Uma solução possível frente a esses cenários, além do controle dos agentes causadores de danos, é o incentivo a apicultura, como forma de prevenção ao quadro relatado (CALEGARI, 2018), ao promover a polinização e aumento da produção agrícola. A apicultura pode ser definida como a criação de abelhas, com o objetivo econômico de extrair produtos apícolas (COELHO, 2013), já que tais abelhas são responsáveis pela produção de mercadorias valiosas no cenário mundial, como o mel – de longe, o mais importante, embora sua produção venha caindo nos últimos anos (FERREIRA, 2015) -, apitoxina, geleia real, cera e própolis (PANDOLFO, 2014). Ainda, deve-se lembrar que a apicultura possui diversos pontos positivos, tais como a baixa necessidade de área para realização das atividades, baixo custo, e possui benefícios para o meio ambiente, sendo uma prática sustentável (PRASNIEWSKI, 2015).

Esses insetos retiram da natureza diversas substâncias necessárias para a

sobrevivência, alimentação e construção da colmeia: água, argila, exsudato de plantas e néctar. O pólen e o néctar são quase exclusivamente a única fonte de alimentação das abelhas, com exceção de espécies que aprenderam a roubar alimento de outras colmeias ou dependem de restos de animais mortos (DA SILVA; DA SILVA, 2007). Eles provêm as necessidades dos insetos de água, vitaminas, sais minerais, gorduras, proteínas e carboidratos. Estima-se que uma colmeia, anualmente, consome cerca de 30 Kg de pólen e 90 Kg de mel (CALEGARI, 2018).

Uma característica que diferencia a *A. mellifera* de outras abelhas é o uso de cera, somente, para a construção de seus favos, cobrindo-os posteriormente com uma fina camada de própolis, com funções antimicrobianas e de preenchimento de rachaduras.

## 1.2 Própolis

É chamado de própolis o conjunto complexo de substâncias balsâmicas advindas de resinas de diversas partes das plantas (brotos, flores, ramos, látex, casca) e exsudatos vegetais de lesões (WAGH, 2013; PANDOLFO, 2014; FERREIRA, 2015; BONAMIGO *et al.*, 2017; CALEGARI *et al.*, 2017) coletadas pelas abelhas operárias da espécie *A. mellifera* e abelhas sem ferrão (Meliponini) (BONAMIGO *et al.*, 2017; DE SOUZA *et al.*, 2018; ALVES, 2018). Embora seja claramente um produto animal, boa parte dos componentes da própolis, em especial os ativos, advém de plantas (FERREIRA, 2017) e não existem muitas modificações pelas abelhas (FALCÃO, 2013).

Esse material pode ser misturado com pólen e néctar (FIANCO, 2014; CAO *et al.*, 2017; GRAIKOU *et al.*, 2016) em diferentes proporções, dependendo da espécie do inseto produtor (CAO *et al.*, 2017). As abelhas adicionam, ainda, enzimas salivares (FIANCO, 2014; FERREIRA, 2015; BONAMIGO *et al.*, 2017), como a  $\beta$ -glicosidase, e ceras (PANDOLFO, 2014; DA SILVA *et al.*, 2019; JANSEN, 2015), tornando esse material moldável. As enzimas são responsáveis pela digestão parcial, por meio de hidrólise de flavonoides glicosilados a agliconas (flavonas e flavanonas) (JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014; ALVES, 2018). Além disso, esses insetos podem fornecer às resinas coletadas ácidos graxos poli-insaturados, a fim de aumentar as propriedades biológicas dos componentes vegetais. Como exemplo, pode-se citar o ganho de um íon pelo flavonoide pinocembrina, aumentando sua capacidade fotoprotetora (GARCIA *et al.*, 2004).

Geralmente, poucas operárias (1,02%), com menos de 15 dias de vida, estão incumbidas de realizar essa coleta, sendo especializadas na forragem de própolis (abelhas campeiras). O processo inicia-se com os insetos coletando a resina das plantas usando como ferramenta suas mandíbulas e, posteriormente, passando-a para as duas pernas traseiras, para o local chamado de corbícula. Quando ambas as pernas estão completamente carregadas, após cerca de apenas sete minutos, as operárias voltam ao ninho e tem a resina retirada de suas pernas traseiras pelas mandíbulas de abelhas cementadoras. Sabe-se que há a coleta de cerca de 10 mg de própolis a cada voo de uma abelha de forragem (FALCÃO, 2013; FERREIRA, 2019).

Por ser um composto basicamente lipofílico, a própolis possui aspecto duro e frágil a temperatura ambiente, mas mostra-se pegajoso e elástico em temperaturas mais altas (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; WAGH, 2013). Por conta de suas características pegajosas e adesivas – devido a sua grande interação com óleos e proteínas da pele (AGUIAR, 2015) -, surgiu a expressão inglesa “*bee glue*” (cola de abelha) (ADELMAN, 2005; FREIRES *et al.*, 2019; WAGH, 2013). A própolis possui a capacidade de se distender seu tamanho em até 200% (DA SILVA, 2018).

Possui odor característico e coloração variável, de marrom até verde, passando por tons vermelhos, de acordo com sua procedência; porém, a mais comum é a marrom escura (KASOTE *et al.*, 2017). Um fato curioso é que até mesmo própolis transparente já foi descrita (WAGH, 2013). A cor da própolis está intimamente ligada ao seu valor comercial e a parâmetros de qualidade (KASOTE *et al.*, 2017), sendo especialmente valorizadas as que possuem cor verde (sudeste brasileiro) e vermelha (nordeste do Brasil) (FERREIRA, 2017). Alguns estudos demonstraram que os extratos com coloração avermelhada possuíam maiores quantidades de compostos fenólicos, quando comparados aos amarelos e os incolores (TORETI, 2011).

Quanto outras propriedades físicas, o ponto de fusão varia de 60 °C até 100 °C, tornando-se maleável a temperatura de 25 - 45 °C (WAGH, 2013). No que tange ao sabor, mostra-se amargo e adstringente; em especial, desagradável ao paladar das crianças (BUCIO-VILLALOBOS; MARTÍNEZ-JAIME, 2017).

Nas colmeias, a própolis tem papel importante no recobrimento de rachaduras,



construção (WAGH, 2013; PANDOLFO, 2014), e reparo (AGUIAR, 2015), proteção contra o vento (FERREIRA, 2015), embalsamamento de corpos de invasores (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011), promoção de isolamento térmico (PANDOLFO, 2014; BONAMIGO *et al.*, 2017; CÉCERE *et al.*, 2021), manutenção da umidade (CÉCERE *et al.*, 2021), impermeabilização (COELHO, 2013), diminuição de vibrações (MONCAYO LUJÁN *et al.*, 2018) e, principalmente, tem função de barrar o crescimento microbiano em áreas essenciais da colmeia (MIGUEL *et al.*, 2014; CALEGARI *et al.*, 2017), como o ambiente de postura de ovos pela rainha (PANDOLFO, 2014).

Reflete bem a origem de seu nome: do grego *pro-*, em defesa, e *polis-*, cidade ou comunidade, isto é, em defesa da comunidade (colmeia) (WAGH, 2013; PANDOLFO, 2014). Em algumas publicações, também pode ser encontrada com o nome de “Guardiã da Cidade” ou “Penicilina Russa” (MARCUSI, 1996; ADELMAN, 2005; LUSTOSA *et al.*, 2008; BALBOA *et al.*, 2018; ALSAYED *et al.*, 2020).

A produção de própolis está intimamente ligada a espécie de abelha analisada. As espécies *Apis cerana* e *Apis florea* não fazem uso desse bioproduto, enquanto *Apis dorsata* reforça sua colmeia com a própolis. Ainda, está ganhando espaço na pesquisa de produtos naturais a própolis produzida por abelhas sem ferrão, que também usam esse material para construção de suas colmeias. Porém, costumam acrescentar outros materiais, como o solo e argila, passando então a ser chamado de geoprópolis (FALCÃO, 2013).

Embora existam várias espécies aptas a produzir própolis, a *A. mellifera* é reconhecida como a principal produtora dentre todas as abelhas (ADELMAN, 2005; BONAMIGO *et al.*, 2017; FALCÃO, 2013). De cada colmeia de *A. mellifera*, podem ser extraídas de 100 a 300 gramas de própolis anualmente (FALCÃO, 2013), o que torna essa espécie um produtor muito eficiente.

### 1.2.1 Histórico

Um dos primeiros relatos do uso da própolis data da Mesopotâmia (DE-MELO *et al.*, 2014) e do Egito antigo, onde era chamada de “cera negra” e tinha função de embalsamamento de mortos (propriedades anti-putrefativas) (WAGH, 2013; PANDOLFO, 2014; AGUIAR, 2015). Ainda, com o mesmo objetivo, os cadáveres de guerreiros eram

tratados com própolis, por civilizações sumérias, persas e assírias, a fim de transportá-los durante longos períodos (PANDOLFO, 2014).

Também existem notas do uso desse produto natural na Grécia antiga e Roma, sendo receitada por médicos como Hipócrates, Galeno, Aristóteles e Plínio, para o tratamento de feridas, desinfecção bucal (PANDOLFO, 2014), tratamento de inchaço e diminuição das dores (PEREIRA; SEIXAS; DE AQUINO NETO, 2002). Nessa mesma época, as mulheres abastadas faziam uso da própolis para obter alívio das dores durante o período menstrual (ADELMAN, 2005) e os soldados romanos carregavam a própolis consigo como um remédio de emergência para tratar feridas (FALCÃO, 2013). Há cerca de 1700 anos a.C, o papiro de Ebers, "Livro de produção de Medicamentos para todas as partes do Corpo Humano", conhecido como o primeiro texto médico, já fazia referência ao uso desse produto natural (ADELMAN, 2005). Existe, ainda, citação da própolis na Bíblia Sagrada, chamada em hebraico de “*tzori*”, comumente traduzida como bálsamo (LACERDA, 2012; FALCÃO, 2013).

Na segunda metade do século XX, o uso da própolis na medicina foi disseminada pelo mundo e adotada nas práticas integrativas e complementares de saúde, bem como no âmbito de produção de suplementos e alimentos (FUNARI; FERRO, 2006). Suas supostas atividades antibacterianas, antiacne e tuberlostática foram aproveitadas por diversos povos, além de existirem relatos de uso para tratamento de halitose, abscessos, problemas coronários e hipertensão (ADELMAN, 2005). Há, ainda, a cultura dos apicultores de mastigar própolis para tratar feridas bucais e problemas do trato digestivo (MORENO *et al.*, 1999).

Notou-se importância de seu uso durante a Segunda Guerra Mundial, nos hospitais da União Soviética, com a utilização da própolis nas intenções de cicatrização e tratamento da tuberculose (WAGH, 2013), bem como seu uso veterinário (SALGUEIRO, 2016). Teve papel importante também na guerra Anglo-Boer (CAO *et al.*, 2017), ocorrida na África do Sul, mostrando suas propriedades cicatrizantes quando usada em pomadas (DE OLIVEIRA, 2015). Nas Américas, pode ser citado o uso pelos índios brasileiros, como os Guarani *m'bya* (LACERDA, 2012), e povos Incas, que manipulavam o geoprópolis das abelhas da região para confeccionar ferramentas e oferendas em sepultamentos (DE-MELO *et al.*, 2014). Hoje, a indústria farmacêutica beneficia-se das atividades desse composto, conhecidas há séculos,

em diversas preparações farmacêuticas (DE SOUZA, 2016).

Outro uso interessante da própolis foi descoberto na Itália e usado por fabricantes de violino (WAGH, 2013). Sua adição em vernizes e polidores deixava uma cor marcante nos instrumentos musicais (MOURA, 2000; ADELMAN, 2005).

Os primeiros trabalhos com foco nesse produto natural e sua composição química foram publicados no *Chemical Abstracts*, em 1908 (WAGH, 2013; PANDOLFO, 2014). Sessenta anos depois, na Romênia, surgia a primeira patente com o uso da própolis, em loções para banho (PEREIRA; SEIXAS; DE AQUINO NETO, 2002). Atualmente, a própolis é o produto apícola mais estudado do mundo (DA COSTA *et al.*, 2016), e o número de patentes com foco nessa resina cresce a cada ano (PANDOLFO, 2014), em especial, no mercado japonês.

No Brasil, até os anos 80, a própolis foi vista como um material indesejado, devido ao fato de que não se conheciam bem suas propriedades biológicas e ela dificultava o acesso a colmeia, já que as abelhas usavam esse material para vedar frestas e unir partes da colmeia. Também se pensava que as abelhas “gastavam” seu tempo coletando própolis, que poderia estar sendo otimizado para produção de mel. Somente após os primeiros estudos serem concluídos, os apicultores passaram a ver o grande potencial desse produto natural, que era comercializado em lojas de produtos alternativos (CALEGARI, 2018; FERREIRA, 2019).

A própolis é reconhecida como um dos produtos naturais que manteve a sua popularidade mesmo com o passar de vários séculos (GARGOURI *et al.*, 2019). Atualmente, é utilizada em diversas áreas, tais como em âmbito veterinário, agrícola e industrial (JANSEN, 2015).

### **1.2.2 Atividades biológicas e usos**

Popularmente, a própolis é conhecida por ter atividades antimicrobiana (FERREIRA, 2015), anti-inflamatória, antiviral (FIANCO, 2014; PANDOLFO, 2014; FERREIRA, 2017), hepatoprotetora, estimulante do sistema imune (PANDOLFO, 2014), adstringente (DA SILVA *et al.*, 2013), antipirética, além de ser usada no tratamento de queimaduras (WAGH, 2013), úlceras (PANDOLFO, 2014; FERREIRA, 2015) e feridas (WAGH, 2013; CAO *et al.*, 2017). Cientificamente, tem-se comprovação de sua ação antimicrobiana contra várias

espécies de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, leveduras e fungos, bem como funções anticarcinogênica, anti-inflamatória, antioxidante, anestésica (CALEGARI *et al.*, 2017; COELHO *et al.*, 2017), imunoestimulante (KUMAZAWA *et al.*, 2013), anti-protozoária (PANDOLFO, 2014; FIANCO, 2014; FERREIRA, 2015; BONAMIGO *et al.*, 2017), cicatrizante (COELHO *et al.*, 2017), anticárie (PANDOLFO, 2014) e antimutagênica (DA COSTA *et al.*, 2016).

Estudos recentes demonstraram a efetividade da própolis no combate ao coronavírus (COVID-19) (ÖZKÖK *et al.*, 2021), enfatizando a importância atual desse produto. O estudo promovido por YONAR *et al.* (2017) demonstrou, ainda, a capacidade protetiva da própolis contra a infertilidade, aumentando a motilidade das células reprodutivas, além do acréscimo a produção de testosterona (YONAR *et al.*, 2017).

Devido ao papel da própolis na colmeia, servindo como uma verdadeira arma natural, não é surpresa que um elevado número de pesquisas surjam nessa área (LUIS-VILLAROYA *et al.*, 2015). Uma atividade extremamente estudada e que coleta o maior número de patentes desse produto natural é o tratamento odontológico, com significativa diminuição da incidência de cáries, bem como dificulta a formação do biofilme nos dentes (PANDOLFO, 2014). Existem ainda relatos e estudos do uso desse material para o tratamento de pressão alta e diabetes (CASTALDO; CAPASSO, 2002; PANDOLFO, 2014; COELHO *et al.*, 2017). A Farmacopeia chinesa (2015) descreve a própolis como um suplemento, a fim de prevenir doenças degenerativas crônicas como diabetes e câncer (YUAN *et al.*, 2020). Porém, o crédito dado a própolis para tantas atividades biológicas a tornaram uma panaceia, levantando dúvidas de aceitação por parte da comunidade de saúde (ADELMAN, 2005).

É sabido que a própolis tem uma baixa toxicidade inata (WAGH, 2013). Isso era esperado, já que os principais constituintes químicos da própolis, os flavonoides, também possuem baixa toxicidade (KUNRATH; SAVOLDI, 2014). Roedores que consumiram uma dose diária de 1400 mg/Kg desse produto natural não tiveram nenhum efeito colateral. Em gatos, foi bem tolerado 100 mg/Kg, por injeções subcutâneas. Estudos inferiram que humanos podem ingerir de forma segura até 1,4 mg/Kg por dia (cerca de 70 mg/dia) (ADELMAN, 2005; WAGH, 2013; DA CUNHA, 2017). Tendo isso em vista, a própolis é considerada segura para consumo, possuindo *status GRAS* (*Generally Recognised as Safe*)

(LUIS-VILLAROYA *et al.*, 2015).

Contudo, a ingestão de grandes quantidades da própolis em seu estado bruto pode causar desconfortos do trato gastrointestinal, bem como tem sido notado aumento nos casos de dermatite de contato, em formulações cosméticas (QUINTERO-MORA *et al.*, 2008; KALOGEROPOULOS *et al.*, 2009; WAGH, 2013).

No que se refere a alergias, nota-se uma tendência de maior susceptibilidade a reações a própolis – e a outros produtos apícolas - em pessoas que também são alérgicas a picada de abelha. Alguns autores afirmam que essa alergia pode advir da secreção salivar dos insetos, enquanto outros afirmam que outras substâncias podem estar envolvidas, como o ácido cinâmico e a vanilina (MOURA, 2000; ADELMAN, 2005). Na própolis a qual tem como fonte botânica o álamo, é sugerido que as dermatites alérgicas são causadas por derivados do ácido cafeico, como o cafeato de 3-metil-butil-2-enil (ADELMAN, 2005).

Outro ponto importante no que tange a própolis é seu alto valor comercial, com imensa valorização: em 2010, o quilo de própolis custava U\$S 84,87, saltando para U\$S 129,47 em dois anos (PANDOLFO, 2014). Em algumas cidades, como Tóquio, no Japão, o frasco pode chegar até a 150 dólares e a grama da própolis produzida em Minas Gerais custa cerca de US\$ 200 (PEREIRA; SEIXAS; DE AQUINO NETO, 2002; ADELMAN, 2005).

Segundo Lustosa *et al.* (2008), são consumidas no mundo cerca de 800 toneladas de própolis, anualmente (LUSTOSA *et al.*, 2008); a produção brasileira é a terceira maior do mundo, estimada em 150 toneladas (FERREIRA, 2015; FERREIRA, 2017). Cerca de 75% dessa quantidade é resguardada para exportação (CAVALARO, 2017). Levando em conta somente o mercado brasileiro em 2005, o comércio de própolis estava avaliado em 360 milhões de dólares anuais (ADELMAN, 2005). O Japão, sozinho, por ano, importa 60 toneladas de própolis do Brasil (FERNANDES JÚNIOR *et al.*, 2001), sendo responsável por 92% da própolis comprada pelo país asiático (PANDOLFO, 2014; FERREIRA, 2017), conhecido por ter uma notável preferência pelo produto brasileiro (FERREIRA, 2017).

No Brasil, pode-se encontrar atividades apícolas em todo o território, o que gera fonte de renda para muitas famílias (CALEGARI, 2018). Tem especial destaque os estados da Região Sudeste, como Minas Gerais (com cerca de 70% da produção nacional, equivalendo

a 29 toneladas, sendo 20 delas apenas de própolis verde) e São Paulo, devido a sua alta capacidade de exportação da própolis verde, uma das mais bem avaliadas internacionalmente (JANSEN, 2015; CAVALARO, 2017; DE LIMA *et al.*, 2019b).

Além disso, o país ainda tem a vantagem de apresentar vasta região territorial e climas variados, associado com a presença de abelhas africanizadas, com a possibilidade de criação desses insetos durante todo o ano (CALEGARI, 2018). Porém, o país ainda enfrenta dificuldades para se colocar de forma competitiva no mercado mundial, com baixa produtividade, mesmo com grandes volumes de vendas, devido à falta de pesquisas e novas tecnologias na área (JANSEN, 2015). Isso pode ser exemplificado quando se nota a baixa quantidade de patentes envolvendo a própolis depositadas no Brasil, mesmo com altos níveis de trabalhos publicados a partir dos anos 90, quando comparada com países como o Japão (FERREIRA, 2017).

Várias formulações contendo própolis estão disponíveis no mercado: cápsulas, pós, xaropes, enxaguantes bucais, sabonetes, cremes, pomadas e dentifrícios, bem como são usados na fabricação de vários cosméticos (WAGH, 2013; JANSEN, 2015). Existem trabalhos demonstrando uma maior proteção contra os raios solares em formulações nas quais foram adicionados extratos de própolis (LACERDA, 2012). Um estudo de 2005 mostrou a habilidade da própolis de inibir a enzima hialuronidase, fazendo com que as células envelheçam mais lentamente, o que tornou esse produto natural interessante para a composição de cremes anti-idade (ADELMAN, 2005; ALENCAR *et al.*, 2005; MOREIRA *et al.*, 2008).

É importante salientar que a própolis também vem sendo estudada no quesito de produção de alimentos funcionais (OLDONI *et al.*, 2015), mesmo que a própolis não tenha nenhum valor nutritivo por si só (ISLA *et al.*, 2009). São chamados alimentos funcionais aqueles que promovem a saúde e previnem doenças, tais como problemas cardiovasculares e patologias crônicas, ao modularem componentes do sistema biológico (IKEGAKI, 2001). Ainda no ramo alimentício, a própolis é usada como antioxidante em produtos de origem animal, bem como é empregada como antimicrobiana em rações (OLIVEIRA, 2019). A própolis se torna um produto especialmente popular, já que os consumidores estão cada vez mais empenhados em obter “produtos verdes” e naturais (LUIS-VILLAROYA *et al.*, 2015).

Ainda, tem-se o uso desse bioproduto no âmbito veterinário, em especial, em casos de tratamento de ferimentos e de mastite bovina, dada as boas atividades antimicrobianas da própolis. Pela mesma razão, é usada no combate a doenças agrícolas que ameaçam plantações (JANSEN, 2015).

Tendo esse contexto em vista, o interesse pela própolis cresceu imensamente nos últimos anos. O enorme número de estudos envolvendo esse produto natural visam um melhor entendimento das suas várias atividades biológicas, bem como das propriedades advindas de cada um de seus constituintes químicos. Isso ajuda a construir uma padronização de referência para os produtores que usam essa matéria-prima, aumentando seu valor econômico, bem como pode vir a se tornar fonte de novas drogas (BOONSAI; PHUWAPRAISIRISAN; CHANCHAO, 2014; OLIVEIRA, 2019). Cabe lembrar que essa forma padronizada deve ser simples e barata, a fim de se tornar acessível para os vários produtores rurais de própolis (MENEZES *et al.*, 1997), melhorando a qualidade de vida dos pequenos, médios e grandes produtores da própolis, bem como dos consumidores (ARRUDA, 2019).

### **1.2.3 Composição química**

As abelhas produzem a própolis usando a matéria-prima vegetal proveniente da vegetação que se encontra em volta da colmeia, em um raio de até 5 km – embora, caso haja necessidade, podem ir até mais longe -, de acordo com sua habilidade biosseletora (LACERDA, 2012). Por isso, sua composição química varia enormemente de acordo com as espécies vegetais disponíveis na região (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; KUMAZAWA *et al.*, 2013; PANDOLFO, 2014; FERREIRA, 2015; BONAMIGO *et al.*, 2017; CALEGARI *et al.*, 2017; DE LIMA *et al.*, 2019a). Além disso, outros fatores podem influenciar nesse quesito, como a espécie e raça da abelha (ARSLAN *et al.*, 2021), perfil genético da rainha (FERREIRA, 2015; FERREIRA, 2017), outros componentes misturados a própolis, umidade, altitude (DE LIMA *et al.*, 2019a), sazonalidade (PANDOLFO, 2014), forma de coleta desse produto (FERREIRA, 2015; DE LIMA *et al.*, 2019a), metodologia de extração (WAGH, 2013; ANDRADE *et al.*, 2018), dentre outros. No Brasil, também nota-se importância do impacto do grau de africanização das abelhas melíferas (JANSEN, 2015).

Alguns autores afirmam que ainda não se sabe exatamente o que as direciona para uma espécie vegetal tão seletivamente (FERREIRA, 2017; DE OLIVEIRA, 2015). Porém, segundo IKEGAKI (2001), as abelhas possuem um grupo de genes que codifica informações sobre o estilo de vegetação a ser visitada. Isso sugere que abelhas da mesma espécie produzem própolis semelhantes mesmo em locais diferentes do globo. Outros fatores importantes são o formato da flor, a luz e a temperatura do ano (CALEGARI *et al.*, 2017).

De modo geral, esse produto natural contém 50 - 60% de resinas e bálsamos, 30 - 40% de ceras, 5 - 10% de óleos essenciais e 5% de grão de pólen, além de outros componentes (WAGH, 2013; PANDOLFO, 2014).

Devido a essa grande variação da própolis provenientes de diferentes partes do mundo, muitos pesquisadores almejam a criação de métodos para a uniformização desse produto natural, tendo em vista seu uso na indústria farmacêutica e alimentícia (CASTRO *et al.*, 2014). Isso se mostra um desafio cada vez maior, visto que cada país tem suas próprias regras de qual metodologia usar e qual substância química marca a qualidade do material (TALERO; HERNÁNDEZ; FIGUEROA, 2012). É um problema global que não haja padronização desse produto natural, gerando desvalorização da própolis, diminuição do seu potencial exploratório industrial e qualidade/segurança de uso (JANSEN, 2015).

Como exemplo, pode-se citar a variação de compostos encontrados entre a própolis europeia e a brasileira: enquanto a primeira é rica em flavonas, flavononas e ácidos fenólicos (MIGUEL *et al.*, 2014), a brasileira possui maior quantidade de fenilpropanóides pré-fenilados, álcoois triterpênicos e flavonoides (MASSARO *et al.*, 2015). Isso se explica pela origem botânica comum das amostras provenientes da Europa: a árvore de Álamo (*Populus deltoides* e *Populus balsamifera*) só cresce em zonas temperadas, enquanto a espécie *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) é uma das visitas preferidas no Brasil (KUMAZAWA *et al.*, 2013).

As primeiras análises da heterogeneidade composicional da própolis estão intimamente ligados ao progresso das metodologias de análises químicas e físicas, por volta da década de 70, por meio do surgimento e aperfeiçoamento de técnicas como cromatografia de camada fina, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectroscopia de Massas (CG/EM) (FERREIRA, 2017).



Hoje, sabe-se que esse produto natural tem porções fixas e voláteis – de 80 a 300 componentes no total (alguns autores afirmam que chega a 500 compostos) (SILICI; KUTLUCA, 2005; MIHAI *et al.*, 2012; PEIXOTO *et al.*, 2021), e é considerada um dos materiais naturais mais heterogêneos (ADELMAN, 2005). Desses, apenas cerca de 3% possuem alguma atividade biológica, sendo essa obtida, geralmente, através da interação sinérgica entre várias substâncias (BASTOS *et al.*, 2008; QUINTERO-MORA *et al.*, 2008). Embora já se tenha descoberto um número tão grande de constituintes, nota-se que muitos trabalhos não almejam analisar a composição completa da própolis, mas sim estudar aqueles que são conhecidos por possuírem atividades biológicas importantes, como os flavonoides (SULAIMAN *et al.*, 2011).

Dentre as moléculas cientificamente reconhecidas da parte fixa, pode-se citar compostos fenólicos, flavonóides (flavonóis, flavonas, flavononas, di-hidroflavonóis e chalconas), terpenos,  $\beta$ -esteroides, aldeídos e ésteres aromáticos, benzofenonas preniladas, álcoois e cetonas (IKEGAKI, 2001; KUMAZAWA *et al.*, 2013; MIGUEL *et al.*, 2014; PANDOLFO, 2014; BONAMIGO *et al.*, 2017). Além disso, ainda podem ser encontrados açúcares diversos (sacarose, frutose, ribose, gulose e rhamnose), outros hidrocarbonetos, aminoácidos, elementos minerais (MIGUEL *et al.*, 2014; YURTERI, 2015; CAO *et al.*, 2017; DA SILVA *et al.*, 2019) (manganês, cobre, cálcio, alumínio, silício, vanádio, níquel, zinco e cromo) (PANDOLFO, 2014), antocianinas, saponinas, taninos, lecitinas (RAMÓN-SIERRA *et al.*, 2019) e pequenas quantidades de vitaminas A, B1, B2, B6, C, E e PP (PANDOLFO, 2014).

Quanto a parte volátil, é encontrada em baixas porcentagens em amostras de própolis, ajudando na caracterização organoléptica dos tipos desse material e da origem botânica. Essa fração contém mono e sesquiterpenos, bem como alcanos e vários compostos aromáticos (LACERDA, 2012; FALCÃO, 2013; DE SOUZA *et al.*, 2018). Na Europa, a parte volátil da amostra contém, predominantemente, eudesmol e benzoato de benzila, enquanto amostras provenientes da Grécia são ricas em  $\alpha$ -pineno. Embora não seja ampla em quantidade, muitos dos compostos nela presentes estão associados a algumas das atividades biológicas. Como exemplo, pode-se citar que o  $\alpha$ -pineno e o  $\beta$ -pineno possuem atividade antimicrobiana contra o fungo *Candida albicans* e a bactéria *Staphilococcus aureus* (LACERDA, 2012).

Contudo, nota-se que a maioria dos artigos utiliza-se de extratos de própolis, e poucos

demonstram as atividades biológicas advindas de óleos essenciais. Os solventes etanol e misturas de etanol e água sempre foram escolhas populares quando se fala sobre extração de produtos naturais (KASOTE *et al.*, 201), e a própolis não é exceção. Geralmente, a própolis é utilizada sob a forma de extratos etanólicos (70%) (EEP) ou metanólicos (EMP), já que são bons solventes para a extração de compostos fenólicos (MIGUEL *et al.*, 2014; PANDOLFO, 2014; ANDRADE *et al.*, 2017).

As ceras são caracterizadas por um conjunto de compostos apolares de cadeia longa. As presentes na própolis apresentam-se como um fator de qualidade importante: a legislação brasileira permite um teor máximo de 25% (g/g) nas amostras de própolis (BRASIL, 2001). Quando os insetos não encontram material suficiente ao redor da colmeia, há um incremento da proporção de ceras, o que leva a desvalorização do produto (PANDOLFO, 2014; DE FRANCISCO *et al.*, 2018), devido à falta de compostos fenólicos (FERREIRA, 2015); isso costuma ocorrer, particularmente, na própolis coletada durante o período de inverno (PANDOLFO, 2014; DE FRANCISCO *et al.*, 2018).

Quando há uma maior proporção de ceras, a própolis torna-se mais maleável. Por isso, um produto rígido é visto como possuidor de uma melhor qualidade, dado que possui uma maior quantidade de resinas (JANSEN, 2015). Além disso, uma maior quantidade de ceras torna o extrato turvo, mesmo quando armazenados em baixas temperaturas (SALGUEIRO, 2016).

Embora não sejam amplamente estudadas, sabe-se que as ceras possuem hidrocarbonetos, ésteres de álcool graxo com ácidos graxos de cadeia longa, ácidos carboxílicos e álcoois alifáticos. São especialmente importantes na textura e consistência desse material natural (PANDOLFO, 2014).

Na Tabela 01, estão listados alguns compostos já identificados em amostras de própolis.

**Tabela 01** Algumas das substâncias químicas comumente presentes em amostras de própolis.

Classe	Exemplos
Hidrocarbonetos Superiores	Penta, hexa e nonacosanoshexanos
Álcoois	Álcoois cinâmico, fenetílico, prenílico, isobutenol, benzílico, glicerol

Ácidos Alifáticos	Ácidos acético, angélico, butírico, fumárico, isobutírico, metilbutírico, crotônico
Ésteres derivados de ácidos alifáticos	Acetatos de isobutila, isopentila e isopentelina
Ácidos Aromáticos	Ácido cafeico, clorogênico, cinâmico, cumáricos (-o, -m, -p), ferúlico, gálico, salicílico, 3-4-dimetoxicinâmico, gentísico, hidroxicinâmico, diidrocinâmico, isoferúlico, vanílico, p-anísico, p-hidroxibenzoico, isoferúlico, 4-metoxicinâmico, protocatéquico, salicílico, 3,4,5-trimetoxidihidrocinâmico, verátrico
Ésteres derivados de ácidos aromáticos	Acetato de benzila, acetato de isobutila, acetato de isopentila, acetato de isopentenila, benzoato de benzila, benzoato de cinamila, cafeato de benzila, cumarato de benzila, cafeato de fenil etila, ferulato de prenila, salicilato de benzila, cafeato de butenila, cafeato de butila, cafeato de cinamila, cafeato de butila, benzoato de etila, benzoato de metila, salicilato de metila; ésteres do ácido cafeico com álcoois graxos de cadeia longa – dodecanol, tetradecanol, tetradecenol, hexadecanol
Ácidos graxos superiores típicos de ceras e usuais	Ácido araquídico, behênico, cerótico, lignocérico, esteárico, láurico, linoleico, palmítico, oleico, láurico, mirístico, montânico,
Ésteres de ácidos graxos	Hexacosilhexadecanoato
Aldeídos	Benzaldeído, aldeído capróico, vanilina, isovanilina, p-hidroxibenzaldeído, protocatecaldeído, 2-hexenal
Cetonas	Acetofenona, p-acetofenol, diidroxicetofenona, metilacetofenona
Flavonas e Flavonois	Acacetina, apigenina, apigenina-7-metil éster, crisina, galangina, galangina-3-metil éster, quercetina, canferol, tectocrisina, kaempferol; 3,7,4', 5'-tetrametil éter da quercetina, alnusina, alpinetina, betuletol, canferisa, canferol, fisetina, isalpinina, isorramnetina, pectolinarigenina, ramnazina, ramnetina, ramnocitrina, tectocrisina
Flavanonas	Naringenina, pinobanksina, pinobanksina-3-acetato, pinobanksina-3-butirato, pinobanksina-3-metil éter, pinocembrina, pinostrobina, alnusitol, alpinetina, sakuranetina
Chalconas e Diidrochalconas	Alpinetina, naringenina, pinobanksina, pinobanksina-3-acetato, pinocembrina, pinostrobina, sakuranetina, 3-O-acetilpinobanksina
Terpenoides	Farnesol, geraniol, cimeno, limoneno, estireno, naftaleno, 5- bisabolol, 1,8-cineol, derivados de clerodane, derivados do labdane, pimirina, sesquiterpenóides, ledol, espatulenol, germacreno
Esteroides	Acetatos de estigmasterol e calinasterol
Lignanás	Sesamina, aschantina, sesartenina, dihidrobenzofuran

Aminoácidos	Alanina, p-alanina, ácido a-aminobutírico, ácido-ô- aminobutírico, arginina, asparagina, ácido aspártico, cistina, cisteína, ácido glutâmico, glicina, histidina, hidroxiprolina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, ácido piroglutâmico, sarcosina, triptofano, valina, serina, treonina, tirosina
Açúcares	D-ribofuranose, d-frutose, d-glucitol, d-glucose, talose, sacarose e xilitol, xilose, galactose, manose, ácido galacturônico, lactose, maltose, melibiose, eritritol, inositol
Vitaminas	A, B-i, B2, Bô, C e E
Minerais	Sódio, potássio, magnésio, bário, estrôncio, cádmio, chumbo, cobre, manganês, ferro, cálcio, vanádio, silício, alumínio, níquel, zinco, cromo, titânio, prata, molibdênio, cobalto, vanádio
Outros	Estireno, hexanolactona, pterostilbeno, xantorreol

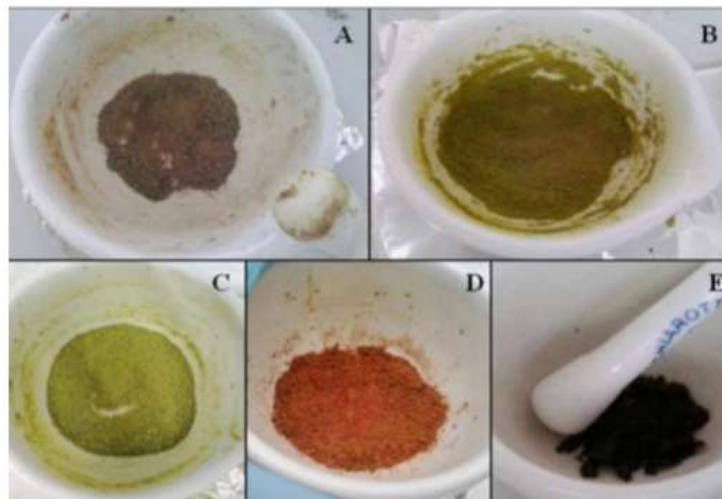
Fonte: MARCUSSI, 1996; ADELMAN, 2005; LUSTOSA *et al.*, 2008.

#### 1.2.4 Tipos de própolis

Existem diferentes tipos de própolis, classificadas segundo perfis químicos, origem geográfica e vegetal, além das propriedades biológicas (DA CRUZ ALMEIDA *et al.*, 2017), tais como antioxidante e antimicrobiana. No Brasil, foram classificados 13 grupos. Os encontrados na Região Sul compreendem a própolis amarela (01), castanha clara (02 e 04), castanho escuro/álamo (03) e marrom esverdeado (05). Os provenientes da Região Nordeste são a marrom avermelhada (06), marrom esverdeada (07), castanho escuro (08 e 10), amarela (09 e 11) e vermelha (13). Por fim, o grupo 12, de própolis verde ou marrom esverdeada, é típica da Região Sudeste do Brasil (PANDOLFO, 2014; DA SILVA, 2018). A Figura 02 mostra um pouco da beleza e diversidade das diversas colorações desse produto natural.

É chamada de própolis verde (12º) aquela obtida no Sudeste e no Centro do país, e tem como fonte botânica principal as folhas da espécie vegetal *Baccharis dracunculifolia* DC (alecrim-do-campo, vassourinha, alecrim de vassoura) (FIANCO, 2014; PANDOLFO, 2014; DE SOUZA *et al.*, 2018; DA SILVA *et al.*, 2019; QUINTINO *et al.*, 2020). Possui como marcador um derivado do ácido hidrocínâmico prenilado, a artepilina C (COELHO *et al.*, 2017; CAVALARO, 2017), bem como a bacarina (BASTOS *et al.*, 2008); além desses, observa-se a presença de ácido p-cumárico e drupanina (FIANCO, 2014; PANDOLFO, 2014). É considerada pelos pesquisadores, dentre todos os tipos, a mais estudada e mais

abundante (FIANCO, 2014; PANDOLFO, 2014), já que apresenta grande variedade de atividades biológicas (PAZIN *et al.*, 2017).



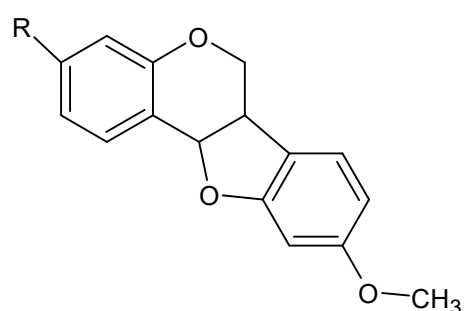
**Figura 02** Exemplos de coloração que a própolis pode ser produzida. A) marrom, B) verde escura, C) verde seiva, D) laranja, E) marrom escura. Fonte: Adaptado de FERREIRA, 2015.

Dentre as características da própolis verde, pode-se destacar seu aspecto duro e friável, com facilidade em se transformar em pó frente a uma força mecânica, bem como suas diversas tonalidades de verde, advinda da clorofila existente nas folhas jovens da sua fonte vegetal, com agradável odor resinoso (COELHO *et al.*, 2017; DA CUNHA, 2017). Deve-se lembrar que é encontrada unicamente no Brasil (AUGUSTO-OBARA *et al.*, 2019).

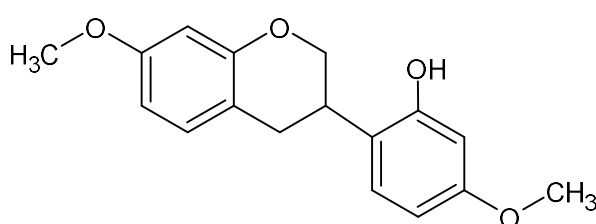
Já a própolis vermelha (13º tipo de própolis brasileira, a mais recente a ser classificada, em 2007) é encontrada no litoral e na costa de rios nordestinos (Maceió, Alagoas), com fonte botânica sendo a leguminosa *Dalbergia ecastapillum* (rabo-de-bugio) (FIANCO, 2014; PANDOLFO, 2014). É conhecida por ser rica em chalconas, pterocarpanos e isoflavavonóides (DA SILVA *et al.*, 2019; DE MORAIS *et al.*, 2021). Esse tipo específico de própolis (clusia) é reconhecido como sendo típico de países como Cuba e Venezuela, com as espécies vegetais originárias sendo *Clusia nemorosa* (Clusiaceae) e *Clusia scrobiculata*, respectivamente (AGUIAR, 2015; DA CUNHA, 2017).

Como as pesquisas com esse novo tipo são incipientes, mais dados são necessários

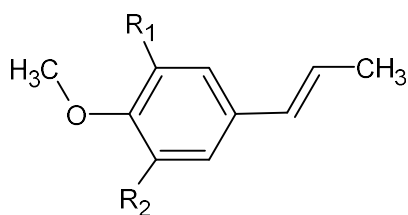
para se ter informações mais específicas. Porém, já se sabe que esse grupo possui uma grande potência em suas atividades biológicas, devido a presença de algumas substâncias que são encontradas exclusivamente nela, tais como vestiol, neovestiol, formononetina e medicarpina (Figura 03). Ela pode valer até cinco vezes mais que a própolis verde. Tem como marcadores os compostos quercetina, biochanina A e pinocembrina. (ANDRADE *et al.*, 2017; BASTOS *et al.*, 2008).



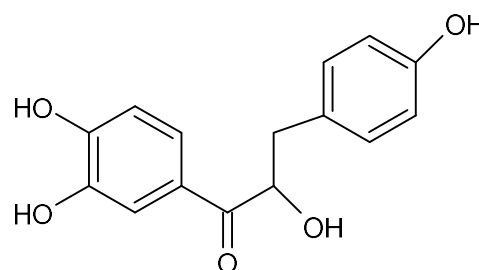
R = OCH<sub>3</sub> (Homopterocarpina)  
R = OH (Medicarpina)



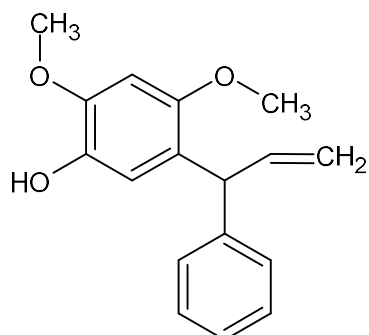
Isoflavonas



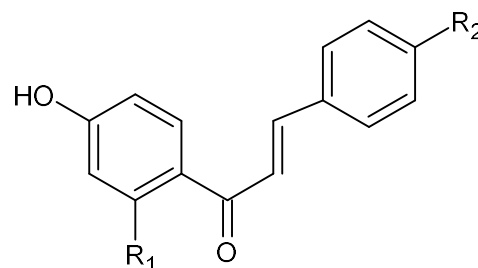
R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H (trans-anetol)  
R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub> R<sub>2</sub> = H  
(trans-metil isoeugenol)  
R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>  
(trans-isoelemicina)



( $\alpha$ S),2',4,4'-trihidroxiidrochalcona

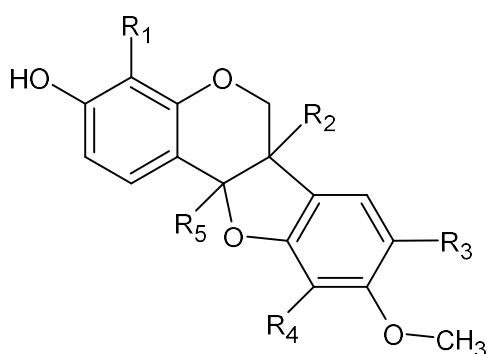


Neoflavonoide  
(7S)-dalbergifenol

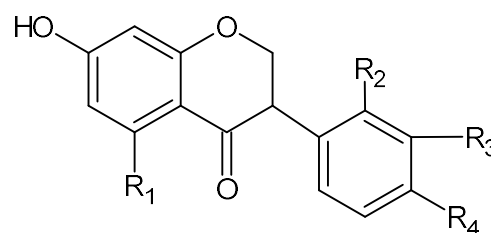


Chalconas

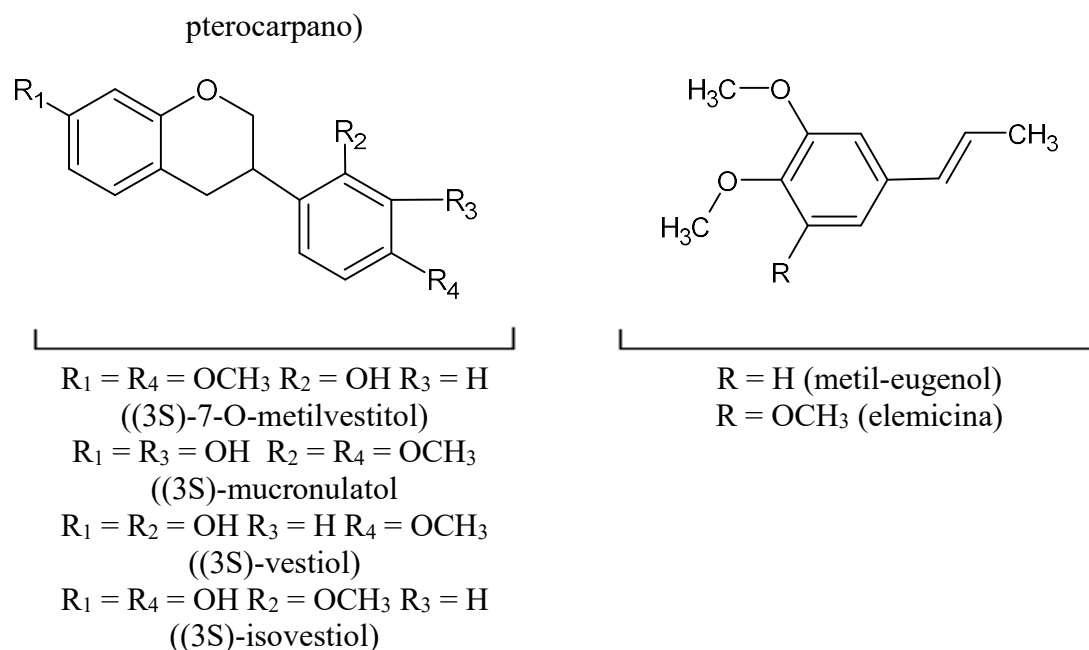
$R_1 = \text{OH}$   $R_2 = \text{H}$  (2,4'-dihidroxichalcona)  
 $R_1 = \text{OH}$   $R_2 = \text{OH}$  (isoliquiritigenina)  
 $R_1 = \text{OCH}_3$   $R_2 = \text{OH}$  (metoxichalcona)



$R_1 = R_3 = R_4 = \text{H}$   $R_2 = \alpha\text{OET}$   $R_5 = \alpha\text{H}$   
 ((6aS,11aS)-6a-etoksi-medicarpano)  
 $R_1 = R_3 = R_4 = \text{H}$   $R_2 = R_5 = \beta\text{H}$   
 ((6aS,11aS)-medicarpano)  
 $R_3 = R_4 = \text{H}$   $R_1 = \text{OH}$   $R_2 = R_5 = \alpha\text{H}$   
 ((6aR, 11aR)-3,4-dihidroxi-9-metoksi-  
 pterocarpano)  
 $R_3 = R_4 = \text{H}$   $R_1 = \text{OCH}_3$   $R_2 = R_5 = \alpha\text{H}$   
 ((6aR, 11aR)-4-metoksi-medicarpano)  
 $R_1 = R_4 = \text{H}$   $R_3 = \text{OCH}_3$   $R_2 = R_5 = \alpha\text{H}$   
 ((6aR, 11aR)-3-hidroxi-8,9-  
 dimetoksipterocarpano)  
 $R_1 = R_3 = \text{H}$   $R_4 = \text{OH}$   $R_2 = R_5 = \beta\text{H}$   
 ((6aS,11aS)-3,10-dihidroxi-9-metoksi-  
 pterocarpano)  
 $R_1 = R_4 = \text{H}$   $R_3 = \text{OH}$   $R_2 = R_5 = \alpha\text{H}$   
 ((6aR, 11aR)-3,8-dihidroxi- 9-metoksi-



$R_2 = R_3 = \text{H}$   $R_1 = \text{OH}$   $R_4 = \text{OCH}_3$   
 (Biochanina A)  
 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$   $R_4 = \text{OCH}_3$   
 (Formononetina A)  
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$   $R_3 = \text{H}$   $R_4 = \text{OCH}_3$   
 (2'-hidroxi-biochanina A)  
 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$   $R_4 = \text{OCH}_3$   
 (Pratenseina)  
 $R_1 = R_2 = \text{H}$   $R_3 = \text{OH}$   $R_4 = \text{OCH}_3$   
 (Calycosina)  
 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$   $R_4 = \text{OCH}_3$   
 (Daidzeína)



**Figura 03** Constituintes químicos do 13º tipo de própolis brasileira (vermelha). Fonte: Adaptado de LUSTOSA *et al.*, 2008.

Outros grupos também já tiveram sua identificação da origem botânica satisfatoriamente analisada. O tipo 06 (marrom avermelhada) teve como principal fonte vegetal a planta *Iptis divaricata* (PANDOLFO, 2014), com abundância do composto hipérbone A, enquanto o grupo 03 (*poplar*/álamo) teve preferência pelo álamo (COELHO *et al.*, 2017; DA SILVA, 2018). A própolis de origem amazônica tem exsudato vegetal provável das espécies de *Clusia* spp. (DA SILVA *et al.*, 2019), com grande quantidade de benzofenonas polipreniladas (COELHO *et al.*, 2017); a amarela tem como base a planta *Clusiarosea* (Copey), sendo especialmente abundante as benzofenonas poli-isopreniladas (DA SILVA, 2018). Por fim, a própolis marrom, típica do Paraná, teve sua origem botânica identificada como *Araucaria heteropilla* (FERREIRA, 2017).

Na Europa, América do Norte e regiões não tropicais da Ásia, há a chamada “própolis de álamo” (*poplar type*) (DA SILVA *et al.*, 2019), assim denominada pela espécie vegetal preferida das abelhas locais: brotos de *Populus* spp., com composição química rica em, principalmente, flavonoides (marcadamente pinocembrina, pinobanksina, crisina, galangina,



kaempferol e pinobanksina-3-acetato), mas também de ácidos fenólicos e seus ésteres (BASTOS *et al.*, 2008; ADELMAN, 2005; BOONSAI; PHUWAPRAISRISAN; CHANCHAO, 2014; COELHO *et al.*, 2017).

Na Rússia, pode ser encontrada a própolis do tipo Vidoeiro, cuja espécie botânica é *Betula verrucosa*. Também possuem flavonas e flavonoides, porém, os compostos são diferentes dos normalmente encontrados na própolis de álamo. Nas regiões de ilhas do Pacífico, como Okinawa, Taiwan, Indonésia, predomina o tipo Pacífico, com riqueza de prenilflavonas advindas da espécie vegetal *Macaranga tanarius*. A própolis do tipo Mediterrâneo é encontrada na Grécia, Sicília e Malta (fonte vegetal: coníferas), composta por diterpenos (MARQUES, 2015; DA CUNHA, 2017; DA SILVA *et al.*, 2019).

Na Bolívia, encontra-se abundância de fenil propanoides prenilados e triterpenos. Por fim, a própolis produzida em Oman, chamada de tipo Omani, teve identificada sua origem botânica como *Azadirachta indica*, *Acacia* spp. (MARQUES, 2015; DA CUNHA, 2017; DA SILVA *et al.*, 2019).

Um breve resumo pode ser encontrado na Tabela 02.

**Tabela 02.** Classificação da própolis brasileira segundo coloração, origem geográfica e botânica. Ainda, são apresentados dados de composição química.

Própolis	Cor	Origem geográfica	Origem botânica	Composição química
Grupo 01	Amarelo	Sul (RS)	-	-
Grupo 02	Castanho claro	Sul (RS)	-	-
Grupo 03	Castanho escuro	Sul (PR)	<i>Populus alba</i>	Éster do ácido dimetil dialil cafeico; flavonoides: crisina e galangina;

Grupo 04	Castanho claro	Sul (PR)	-	-
Grupo 05	Marrom esverdeado	Sul (PR)	-	-
Grupo 06	Marrom avermelhado	Nordeste (BA)	<i>Hyptis divaricata</i>	Ésteres de ácidos graxos; compostos aromáticos; terpenos; flavonoides;
Grupo 07	Marrom esverdeado	Nordeste (BA)	-	-
Grupo 08	Castanho escuro	Nordeste (PE)	-	-
Grupo 09	Amarelo	Nordeste (PE)	-	-
Grupo 10	Amarelo escuro	Nordeste (PE)	-	-
Grupo 11	Amarelo	Nordeste (PI)	-	-
Grupo 12	Verde ou marrom avermelhado	Sudeste (MG, SP)	<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Flavonoides; ácidos fenólicos; aldeídos aromáticos; cetonas; álcoois, terpenos; ácidos graxos; aminoácidos; oligoelementos; vitaminas; hidrocarbonetos;
Grupo 13	Verde	Nordeste (BA, PB,	<i>Dalbergia</i>	Flavonoides: pinocembrina,

---

AL)	<i>ecastophyllum</i>	formonnetina, rutina, quercetina, dalbergina; Ácidos fenólicos: ácido ferúlico;
-----	----------------------	---

---

Fonte: Adaptado de DE ALMEIDA, 2017.

Ainda, ouve-se falar em um outro tipo de própolis, já que os comerciantes estão mudando seu jeito de produção. A modernidade trouxe a possibilidade de se obter a chamada própolis orgânica, ou seja, aquela produzida em reservas ambientais ou áreas reflorestadas, sem danos ao ecossistema da região. Os requisitos para que esse material tenha o título de “orgânico”, de acordo com a Instrução Normativa nº 64, são: as colmeias devem estar localizadas a pelo menos 3 km de qualquer áreas de agricultura convencional ou outras fontes de contaminação (aterros, depósitos de lixo, zonas industriais ou urbanas), estando preferencialmente em localidades de agricultura orgânica ou mata nativa (BRASIL, 2008). Porém, deve-se lembrar que abelhas possuem um arco de voo ao redor da colmeia de cerca de 5 km, podendo atingir distâncias ainda maiores em casos especiais (LACERDA, 2012). Por isso, essas especificações possam estar defasadas.

Ainda segundo essa normativa, não é permitido o uso de radiação ionizante, aditivos artificiais, agrotóxicos sintéticos, seres transgênicos, fertilizantes minerais solúveis e drogas veterinárias convencionais (BRASIL, 2008). A fim de garantir a continuidade da produção orgânica e o cumprimento dos requisitos, o Ministério da Agricultura realiza auditorias periódicas nessas regiões de produção (LACERDA, 2012).

A própolis orgânica possui menores teores de contaminantes e poluição, tornando-a popular entre os entusiastas de uma alimentação mais saudável, livre de agrotóxicos, bem como pelos defensores ambientais. Sugere-se, ainda, que a própolis produzida por esse sistema pode ter majoritariamente compostos como ácidos fenólicos, aumentando algumas de suas capacidades biológicas, como a antioxidante. Isso pode ser explicado pelo seu ambiente de cultivo, já que estão geralmente longe de grandes centros urbanos ou áreas agrícolas (LACERDA, 2012). Além disso, por ser proibido o uso de agentes químicos contra pragas, as plantas da região são forçadas a uma maior produção desses compostos ativos, a

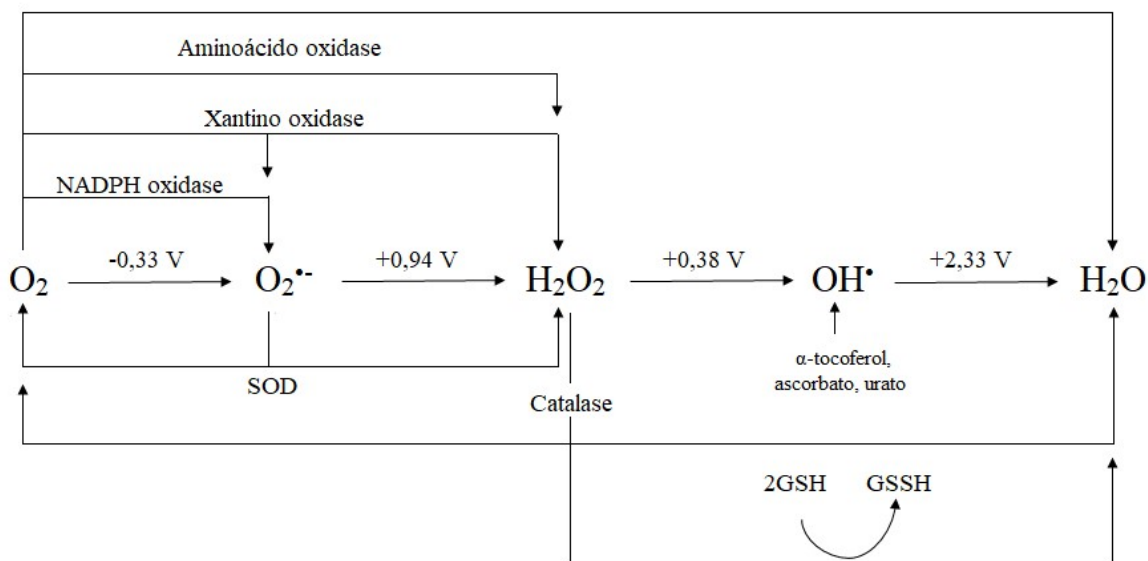
fim de se proteger (PANDOLFO, 2014).

### 1.3 Atividade antioxidante

A discussão sobre a importância do combate a radicais livres e outros agentes oxidantes não é recente. Muitos estudos apontam a influência destes em processos de envelhecimento e degeneração celular (MOUHOUBI-TAFININE; OUCHEMOUKH; TAMENDJARI, 2016), tais como câncer (CALEGARI *et al.*, 2017; DE LIMA *et al.*, 2019a), disfunções do sistema imunológico, artrite, diabetes, problemas hepáticos e renais, Parkinson, e Alzheimer (WAGH, 2013; BONAMIGO *et al.*, 2017). Segundo FERREIRA; MATSUBARA (1997), compostos oxidantes, como as Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), estão ligados a mais de cinquenta distúrbios fisiológicos (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Embora ainda haja a prevalência da definição antiga – aumento do número de oxigênios na molécula -, a oxidação pode ser caracterizada por uma reação de transferência de elétrons ou de hidrogênios para a substância que será reduzida. São chamados de radicais livres moléculas com elétrons desemparelhados, altamente reativas e instáveis, possuindo tempo de meia vida curto (ALVES *et al.*, 2010; MOUHOUBI-TAFININE; OUCHEMOUKH; TAMENDJARI, 2016).

As próprias reações do metabolismo orgânico são capazes de produzi-los (CASTRO *et al.*, 2014; OLDONI *et al.*, 2015; CAO *et al.*, 2017), como a respiração aeróbica. As mitocôndrias são uma das principais fontes de radicais livres e, por esse motivo, suas membranas e proteínas que ali se encontram sofrem com os danos (COELHO, 2013). O O<sub>2</sub>, quando no interior da mitocôndria, é reduzido até tornar-se tetravalente na produção de água (Figura 04). Ainda, podem ser produzidos pelo metabolismo do nitrogênio, pelas reações de detoxificação de xenobióticos pelo citocromo P450, pelas reações de outras enzimas citoplasmáticas (catecolaminas e riboflavinas) e fagocíticas (mieloperoxidases). Além disso, podem advir do meio externo, pela exposição à radiação ultravioleta, xenobióticos (benzopirenos e quinonas), dieta inadequada, e uso de cigarro (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; ARANGUENA SALAZAR, 2019; KALTHOFF; STRASSBURG, 2019).



**Figura 04** Etapas da transformação do oxigênio em água, gerando espécies parcialmente reduzidas. Também são mostradas as defesas antioxidantes enzimáticas. Fonte: Adaptado de MOREIRA, 2002.

Isso leva a um paradoxo da vida aeróbica, já que depende exclusivamente de oxigênio, mas esse também causa uma série de danos quando em excesso, e associado a falhas nos mecanismos antioxidantes celulares (estresse oxidativo) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; DE FRANCISCO *et al.*, 2018). Cerca de 5% de todo o oxigênio diário consumido torna-se EROs (TIVERON, 2015).

As mais famosas substâncias estudadas nesse aspecto são os chamados EROs, ou Espécies Reativas de Oxigênio, os quais podem-se citar o radical hidroxila – o mais reativo deles- ( $OH^\bullet$ ), o radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e hidroperoxila ( $ROO^\bullet$ ) (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011). Tais compostos podem interagir rapidamente com as bases nitrogenadas do *DNA*, causando mutações, quebras de fitas simples ou duplas, modificações de bases nitrogenadas e ligações cruzadas (JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014). Além disso, são relatados danos a proteínas e lipídeos, causando má enovelamento e peroxidação lipídica, respectivamente (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; PANDOLFO, 2014).

Um dos grandes problemas relacionadas aos EROs é sua rápida amplificação, já que

seus produtos também podem danificar outras moléculas, propagando o efeito indesejável e tornando-se acumulativos, como no caso de moléculas de ácido graxos poli-insaturados (LIMA; ABDALLA, 2001).

Os efeitos deletérios dos compostos oxidantes também são observados em alimentos e bebidas, já que causam alterações no odor e sabor, além do fator nutricional perdido, o que acarreta em desperdício de alimentos. Entre as principais reações observadas, cita-se a peroxidação lipídica, a principal fonte deteriorante de compostos graxos, com a produção de aldeídos voláteis, principais responsáveis pelo ranço (ou rancidez oxidativa) (CAVALARO, 2017). A peroxidação lipídica também possui efeitos a níveis celulares, já que membranas plasmáticas são especialmente sensíveis a ataque de EROs. Isso gera mudanças em sua permeabilidade e pode levar até mesmo a morte celular pelo extravasamento de enzimas citotóxicas (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

São denominadas substâncias antioxidantes, sintéticas ou naturais, aquelas presentes no meio, mesmo que em pouca quantidade, com o poder de inibir a oxidação de substratos (ADELMAN, 2005; DA COSTA *et al.*, 2016). O organismo tem, naturalmente, mecanismos de controle de agentes oxidantes, como enzimas de degradação (catalase, superóxido dismutase, glutathione redutase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, dentre outras), e diferentes moléculas de suporte, como a glutathione reduzida, um cofator para enzimas, que possui grupos tióis responsáveis por eliminar radicais livres; caso tais moléculas tenham falha de produção ou sejam inibidas, há diminuição do potencial redox das células e o organismo entra em estresse oxidativo, levando a dano celular (YONAR *et al.*, 2012), dano mitocondrial, ativação de caspases e apoptose (BONAMIGO *et al.*, 2017).

Outra forma de proteção pode advir da dieta (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; SARAL *et al.*, 2019). O antioxidante natural mais conhecido de fontes exógenas é a vitamina C, ou ácido ascórbico, presentes em frutas cítricas. Ainda se pode citar os carotenoides, tocoferóis e flavonoides (SUCUPIRA *et al.*, 2012; BONAMIGO *et al.*, 2017).

O mecanismo de ação das substâncias antioxidantes baseia-se na desativação das moléculas degradantes antes de seu encontro e interação com seus alvos biológicos, por meio da doação de elétrons ou hidrogênios (antioxidantes primários). O resultado das reações de

inibição produz moléculas não reativas, mais estáveis, e essas podem, posteriormente, ser degradadas por meio de outras enzimas e processos. Podem, inclusive, agir como quelantes, sequestrando metais de transição, já que são geralmente catalizadores de reações oxidativas, absorverem radiação ultravioleta (antioxidantes secundários), e sequestrarem oxigênio (SILVA *et al.*, 2010; GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; SUCUPIRA *et al.*, 2012; MORAIS *et al.*, 2013; TIVERON, 2015; CALEGARI, 2018).

Deve-se observar certas características para que uma molécula seja considerada como um bom antioxidante. Primeiramente, deve ser atóxica e possuir boa interação com outros antioxidantes presentes. Ainda, deve ter alta capacidade de sequestro, mesmo em baixas concentrações no meio: quando for usado apenas um antioxidante, sua concentração não deve ultrapassar 0,01%. Porém, quando mais de um tipo for escolhido, a quantidade deve ser menor do que 0,02% (nenhum deles individualmente devem ultrapassar o valor de 0,01%). E, ainda, seu poder de ação em diferentes meios, baseado em sua solubilidade, deve ser satisfatório (ADELMAN, 2005; KUNRATH; SAVOLDI, 2014). Não deve haver modificações das características organolépticas originais do produto, devendo ser compatível com a formulação e os processos gerais do produto (CAVALARO, 2017). Por fim, deve ter meia vida longa e aceitável biodisponibilidade, com capacidade atravessar membranas biológicas e chegar até seu local de ação (TIVERON, 2015).

Porém, diante de todos esses fatos apresentados, é necessário notar que as reações de oxidação são essenciais em um sistema biológico e fundamentais para a vida, participando do transporte de elétrons, fagocitose, quimiotaxia, crescimento tecidual, síntese de colágeno e prostaglandinas, apoptose, expressão gênica, sinalização celular, ativação de enzimas (BONAMIGO *et al.*, 2017; DE FRANCISCO *et al.*, 2018; ARANGUENA SALAZAR, 2019), além do processo de capacitação de espermatozoides (CAPUCHO *et al.*, 2012). Além disso, muitas reações oxidativas estão presentes em processos industriais, como por exemplo, na conservação de alimentos, borracha e gasolina, bem como na produção de cosméticos e na síntese de novas moléculas orgânicas (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011). Os antioxidantes biológicos não possuem a função de inibir completamente os radicais; um equilíbrio deve ser mantido em um nível basal (VIZZOTTO, 2017).

Embora exista uma variedade de compostos antioxidantes sintéticos, como butil

hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), t-butil-hidroquinona (TBHQ), e o galato de propila (PG), seus possíveis efeitos colaterais, tóxicos e carcinogênicos guiam as pesquisas para alvos naturais, a fim de reduzir os riscos (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; PANDOLFO, 2014). A literatura afirma que os efeitos colaterais de tais moléculas incluem aumento do peso do fígado, proliferação do retículo endoplasmático (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004), além dos efeitos de iniciação e promoção da geração de tumores (ABUBAKER; FAGEER, 2017).

Em alguns locais, como no Canadá e na União Europeia, o antioxidante TBHQ é proibido. Com relação a legislação brasileira, tem-se limites máximos permitidos para eles: 0,02 g/100 g de óleos e gorduras para BHA e TBHQ, e 0,01 g/100 g de BHT (BRASIL, 2005). Ainda, sabe-se que tais compostos, a depender de sua concentração, podem agir como pró-oxidantes quando em contato com alimentos (CAVALARO; FABRICIO; VIEIRA, 2020), além de serem voláteis e se decomporem em altas temperaturas (TIVERON, 2015).

Além disso, os numerosos estudos afiliando o consumo de frutas e outros alimentos com altos níveis de antioxidante com o baixo risco de doenças tem levantado o interesse populacional por esses compostos (PANDOLFO, 2014); os consumidores buscam não somente qualidade nutricional, mas também alimentos que promovam qualidade na saúde (DE FRANCISCO *et al.*, 2018). Por fim, segundo RAMÓN-SIERRA *et al.* (2019), substâncias antioxidantes de origem natural podem ter grande impacto em doenças como *diabetes mellitus*, obesidade e hipertensão arterial (RAMÓN-SIERRA *et al.*, 2019).

Nesse contexto, pesquisas no ramo de produtos naturais são essenciais, a fim de se obter substitutos para essas moléculas sintéticas, mantendo a qualidade, segurança e características organolépticas originais dos produtos (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; LUIS-VILLAROYA *et al.*, 2015). A própolis, rica em compostos fenólicos ativos, mostra-se como uma alternativa de substituição em formulações e medicamentos (ARSLAN *et al.*, 2021).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.2 Objetivo geral**



Realizar revisão bibliográfica sobre a atividade antioxidante dos diversos tipos de própolis produzidas pela abelha *Apis mellifera*, bem como observar os fatores que levam as possíveis diferenças dos resultados e avaliar a composição química das amostras. Desse modo, esse estudo também visa contribuir para a produção de conhecimento no âmbito dos produtos naturais.

### **2.3 Objetivos específicos**

- Analisar a atividade antioxidante dos estratos de própolis de abelha *Apis mellifera* provenientes de diversas partes do planeta;
- Analisar as metodologias usadas para determinar a capacidade antioxidante da própolis, tais como DPPH, *FRAP*, ABTS, *ORAC*, teste em células, *in vivo*, em produtos alimentícios, dentre outros;
- Observar os fatores que levam a variação de resultados (período e local de coleta, metodologia de extração, dentre outros);

## **3 PROCEDIMENTO METODOLÓGICO**

O desenho que guiou a presente revisão bibliográfica baseou-se nos seguintes passos: determinação do tema, objetivo e informações a serem obtidos de cada material, estabelecimento de critérios para a inclusão e exclusão, escolha das bases de dados, seleção da amostra, análise dos materiais encontrados, discussão e apresentação dos resultados sob a forma de uma revisão.

### **3.1 Critérios de inclusão**

Trabalhos experimentais (artigos, teses e dissertações) que apresentam testes que avaliam a atividade antioxidante da própolis de *Apis mellifera*, *in vivo* e *in vitro*, foram elegíveis. Estudos que faziam paralelos entre a atividade antioxidante e a composição química da própolis foram considerados.

### **3.2 Critérios de exclusão**

Os seguintes trabalhos foram excluídos: (1) aqueles fora do período de tempo especificado (2011 a 2021); (2) aqueles com o formato inadequado (revisões, livros,

capítulos, resumos e pôsteres de congresso, cartas, e artigos de opinião); (3) aqueles escritos em outras línguas fora português, inglês e espanhol; (4) aqueles que não testaram a atividade antioxidante; (5) aqueles que não utilizaram a própolis como material de estudo; (6) aqueles que não especificaram a espécie de abelha produtora da própolis; (7) aqueles que usaram outras espécies de abelhas, com exceção da *Apis mellifera*; (8) aqueles que não especificaram o processo de preparo do extrato ou o local de coleta da própolis; (9) aqueles que não usaram o extrato bruto da própolis, mas sim fizeram partição, isolamento de substâncias, ou uso de co-produtos e resíduos; (10) aqueles que avaliaram a atividade antioxidante da própolis em associação com outras substâncias.

### 3.3 Fontes de informações e estratégias de busca

As bases de dados escolhidas para a busca foram: *SciELO (Scientific Electronic Library Online)*, Google Acadêmico, PubMed, BVS (Biblioteca Virtual em Saúde), *Scopus*, *Cochrane Library*, *Embase*, *Science Direct*, *CRD (Centre for Reviews and Dissemination)*, e Catálogo de Teses e Dissertações da CAPES, a fim de garantir uma abrangência satisfatória sobre o tema.

Foram realizadas duas buscas em cada uma das bases citadas: a primeira, com o termo em inglês e a segunda, em português (Anexo 01 – Tabela 16); embora artigos em espanhol que eventualmente apareceram nas buscas tenham sido aceitos, não houve a pesquisa direta dos termos em espanhol. Dentro de cada base de dados, o critério de exclusão por data já foi inserido.

Todos os termos foram submetidos a consulta aos descritores em saúde, por meio do site DeCS (Descritores em Ciências da Saúde), além de busca *MESH*. Os termos “*Apis mellifera*” e “propolis” foram devidamente identificados. Contudo, “atividade antioxidante” não foi encontrada em DeCS/*MESH*.

### 3.4 Seleção dos estudos

Esta revisão bibliográfica compreendeu quatro etapas. Na primeira, foi realizada a busca de acordo com os termos apropriados em cada base de dados. Posteriormente, na segunda etapa, tais referências encontradas foram adicionadas ao programa de gerenciamento de citações EndNote Web, onde foi realizada remoção de duplicatas. Durante a terceira etapa, foram removidos trabalhos que não respeitavam os critérios anteriormente

descritos, por meio de leitura de título e resumo. Por fim, na quarta etapa, as referências restantes foram novamente analisadas, porém dessa vez, por meio de leitura integral do texto.

Foram retiradas informações dos materiais que compõem o acervo final dessa revisão: tipo de material (artigo, teses, dissertação), ano de publicação, linguagem, tipo de própolis usada, época e local da coleta da própolis, espécie e nomenclatura da abelha, tipo de extrato, tipo de metodologia usada para avaliar a atividade antioxidante, e fonte vegetal da própolis.

## **4 RESULTADOS**

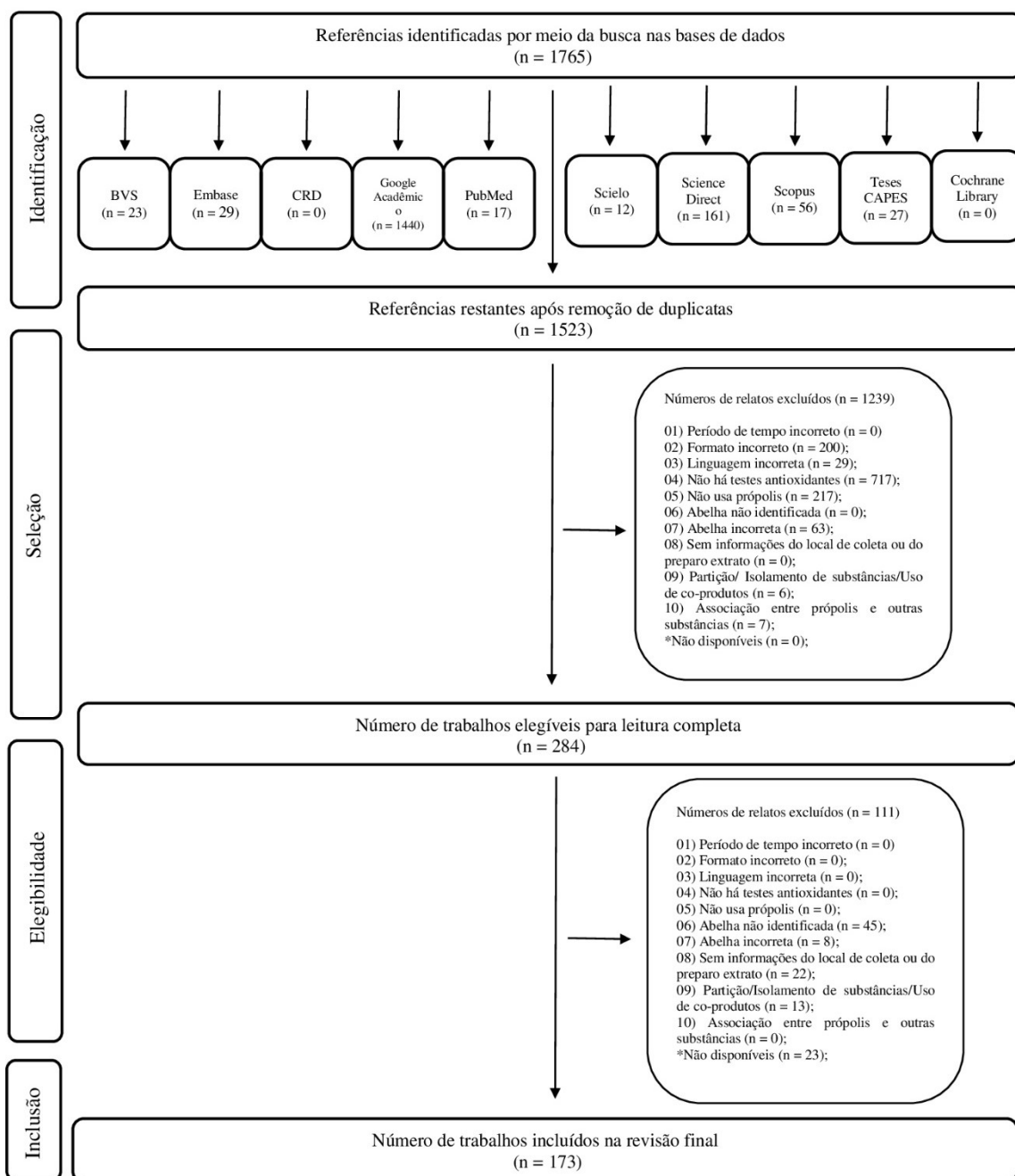
Inicialmente, na primeira fase, foram identificados um total de 1.765 publicações no período de 01 de janeiro de 2011 até o dia 29 de abril de 2021. Após inserção no gerenciador online EndNote, 242 duplicatas foram excluídas. Dos 1.523 materiais restantes, 1.239 foram eliminados após análise do título e dos resumos, uma vez que foi percebido que não se enquadravam nos critérios pré-estabelecidos. Os 284 artigos remanescentes formaram o acervo inicial, cuja leitura posterior seria integral. Uma análise de texto integral de cada material eliminou outros 111 artigos. Por fim, a presente revisão baseou-se nos dados obtidos em um total de 173 artigos científicos, teses e dissertações, que formam o campo analítico, como demonstrado no fluxograma da Figura 05.

### **4.1 Caracterização das produções**

As características mais específicas, bem como as informações qualitativas (referência, raça da abelha, local e época de coleta da própolis e seu tipo, processo de extração da amostra e possível fonte botânica) de cada trabalho escolhidos para essa revisão bibliográfica podem ser encontradas no Anexo 02 (Tabela 17).

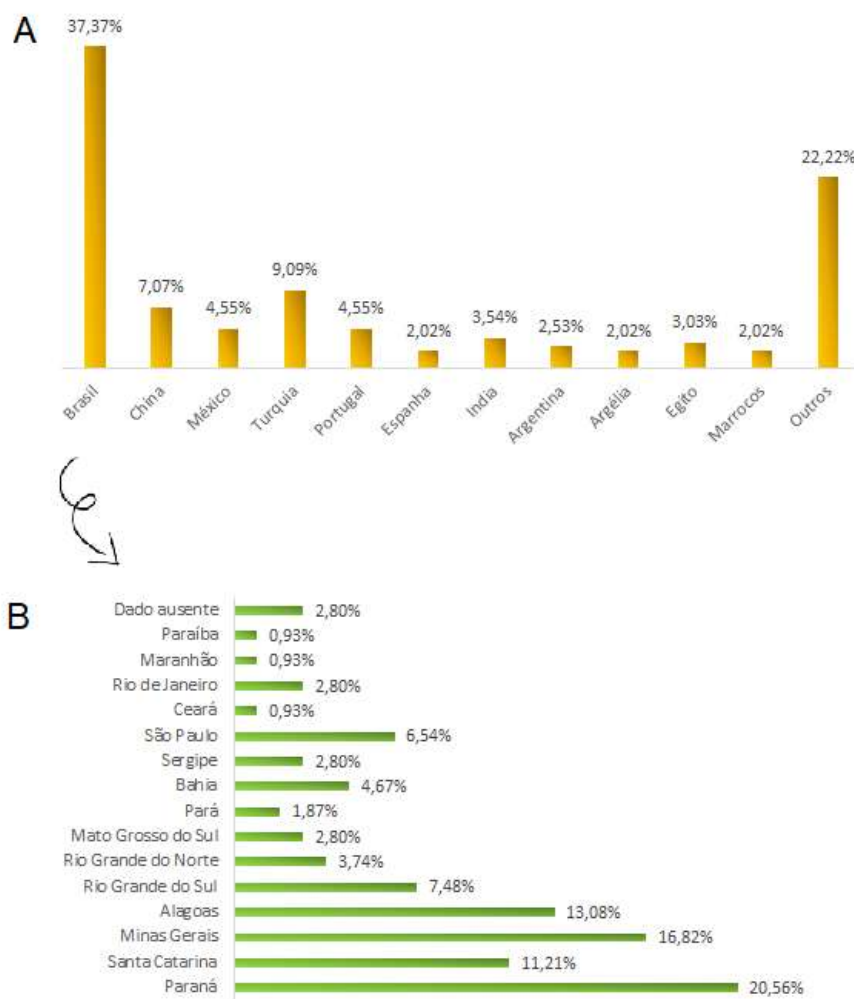
Dentre os diversos países de coleta do material natural, há a predominância do Brasil (37,37%), seguido pela Turquia (9,09%) e China (7,07%) (Figura 07-A). Isso pode ser explicado por dois fatores: primeiro, metade das chaves de busca estavam escritas em português, além de algumas bases de busca serem voltadas para trabalhos publicados na América Latina. Soma-se a isso, ainda, o fato de que o Brasil alterna entre o segundo e terceiro lugar de maior produtor de própolis do mundo, com volume de matéria-prima de cerca de 150 toneladas anuais (PANDOLFO, 2014). A própolis brasileira é uma das mais estudadas globalmente, devido a sua grande qualidade organoléptica e baixo teor de metais

pesados e outros contaminantes, bem como pelo fato de possuir atividades biológicas satisfatórias (DE FRANCISCO *et al.*, 2018).



**Figura 05** Fluxograma de materiais obtidos, excluídos, duplicados e aproveitados da presente revisão bibliográfica. Adaptado de PRISMA. Fonte: Adaptado SOUZA *et al.*, 2017.

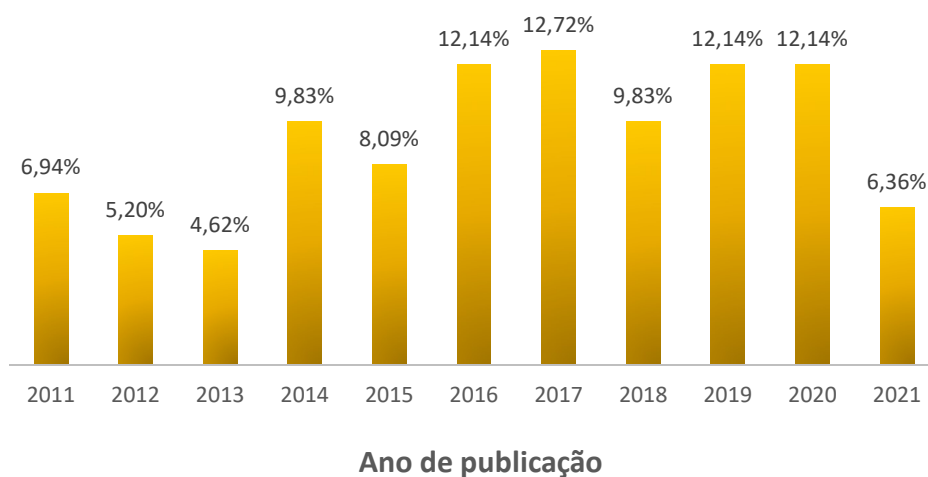
Com relação aos estados brasileiros aonde houve coleta de amostras (Figura 06 – B) destacam-se aqueles localizados na Região Sul e Sudeste, como Paraná, Santa Catarina e Minas Gerais, amplamente reconhecidos como produtores eficientes de própolis verde e, mais recentemente, da qualidade orgânica. O estado de Alagoas também se sobressai, principalmente nos trabalhos desenvolvidos com a própolis vermelha.



**Figura 06** Locais de coleta das amostras de própolis usadas nos experimentos dos trabalhos da presente revisão bibliográfica. A) Países de coleta. O dado “outros” refere-se a diversas localidades citadas poucas vezes: República Checa (0,51%), Tunísia (1,01%), Grécia (0,51%), Croácia (1,52%), Indonésia (1,52%), Arábia Saudita (0,51%), Iraque (0,51%), Chile (1,52%), Peru (1,01%), Sudão (0,51%), Canadá (0,51%), Austrália (1,52%), Romênia (1,01%), Coreia (1,01%), Polônia (1,01%), Líbia (0,51%), Hungria (0,51%), Bolívia (0,51%), Chipre (0,51%), Rússia (0,51%), Colômbia (0,51%), Tailândia (0,51%), Paquistão (0,51%), Uruguai (0,51%), Etiópia (0,51%), Bulgária (0,51%), Líbano (0,51%), Sérvia (1,01%), Oman

(0,51%), e trabalhos que só citaram nome do continente (0,51%); B) Estados do Brasil aonde houve coleta de própolis.

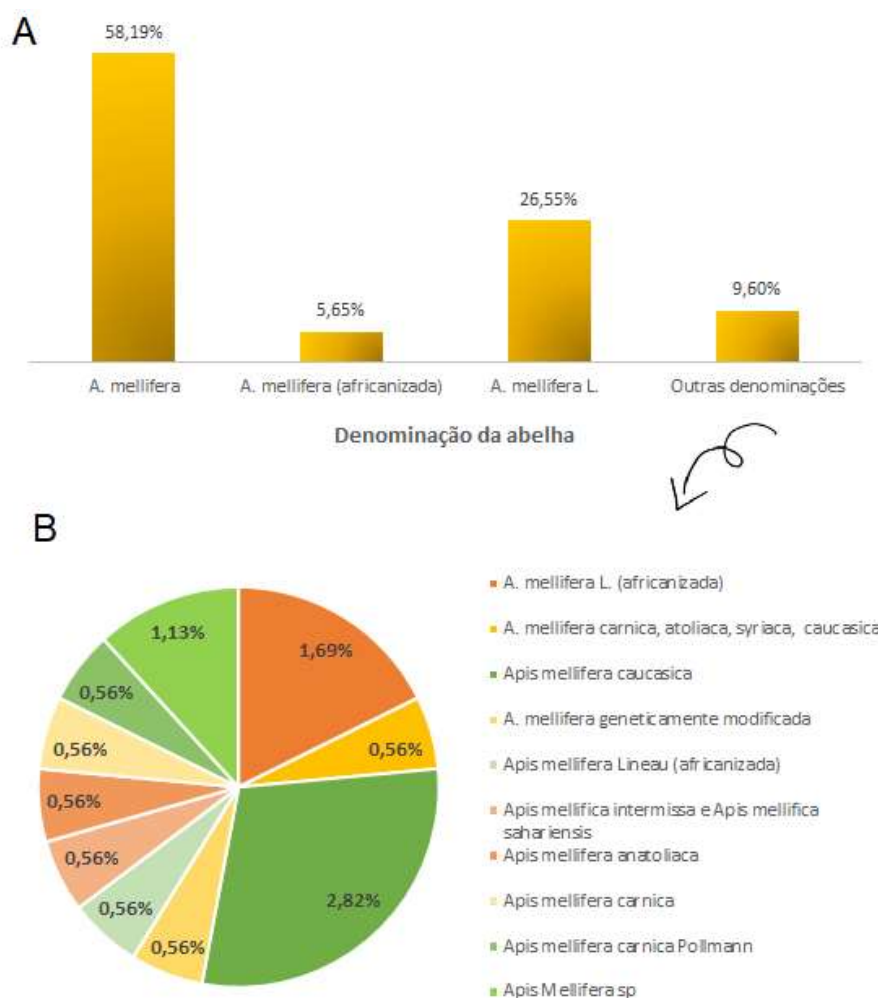
Com relação ao ano de publicação dos trabalhos, nota-se um aumento de interesse pelo tema, com pico nos biênios de 2016/17 e 2019/20. O ano de 2021 não pode ser analisado com clareza, devido ao fato de essa pesquisa ter sido conduzida apenas com os trabalhos publicados até o final de abril. Porém, nota-se que, mesmo sendo realizada a busca no primeiro semestre de 2021, esse ano ainda obteve resultados mais expressivos quando comparados com 2012 e 2013 (Figura 07).



**Figura 07** Ano de publicação dos trabalhos que compõem o acervo da presente revisão bibliográfica.

Foram identificados 144 artigos científicos (83,24%) e 29 teses/dissertações (16,76%), publicados majoritariamente em inglês (80,92%), a língua universal da ciência, que facilita a comunicação e compartilhamento de informações a nível mundial; mas também houve trabalhos em português (17,34%) e em espanhol (1,73%).

Quanto as abelhas usadas, 58,19% dos materiais trouxeram apenas a denominação “*Apis mellifera*”, enquanto 5,65% especificaram o inseto como sendo “Africanizada” e 26,55%, como “*Apis mellifera* L.”. Por fim, em 9,60% dos trabalhos, outras raças de abelha, bem como uma mistura delas, foram estudadas (*A. mellifera caucasica*, *carnica*, *anatolica*) (Figura 08). Essa variedade e ausência de padronização na descrição demonstra, novamente, a dificuldade de comparação entre as pesquisas e os resultados, dada a vasta diferença de raças de abelhas existentes, que surgiram ao longo dos anos.



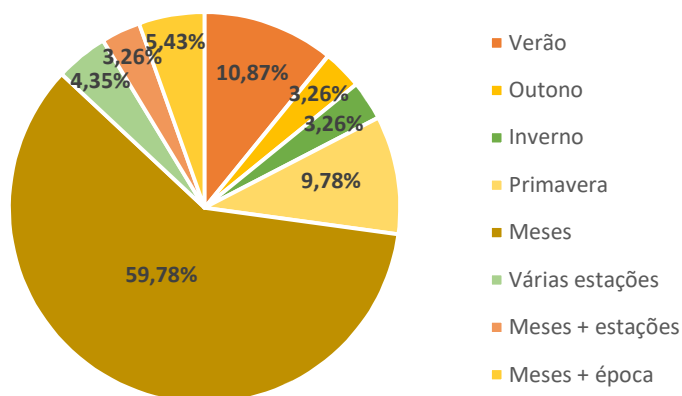
**Figura 08** Representação gráfica da nomenclatura da abelha utilizada em cada material dessa revisão. A) Denominações mais comuns nos trabalhos; B) Desmembramento de nomenclaturas usadas menos frequentemente, incluídas anteriormente, na figura A, como “outras denominações”.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Época de coleta (sazonalidade)

As diferenças de resultados observados nesse levantamento bibliográfico podem ter causas diversas: variedade das amostras de própolis, diferenças no processo de extração e coleta, diversidade de métodos de avaliação, parâmetros como temperatura, umidade, e reagentes utilizados (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; WAGH, 2013).

Além disso, foi notado que apenas 57,06% dos trabalhos traziam claramente a informação da época de coleta das amostras de própolis. Isso torna difícil a comparação de resultados, já que, em todo mundo, diversos grupos desse produto natural foram descritos, com diferentes composições químicas e atividades biológicas a depender das condições edafoclimáticas. No que concerne a maneira a qual como essa informação foi descrita, 31,52% dos autores citaram apenas a estação de coleta, enquanto 59,78% apresentaram esses dados como mês ou o período de meses do ano. Dentre as estações preferidas, a que compreendeu o maior número de estudos foi o verão (10,87%). Alguns materiais, ainda, associaram ambos os dados (meses e estações) (3,26%), enquanto uma pequena porcentagem (5,43%) informou o tipo de clima presente na região no momento da coleta (época de seca, chuva, floração, dentre outros), além dos meses do ano (Figura 09).



**Figura 09** Denominação da época de coleta das amostras de própolis nos materiais dessa revisão bibliográfica.



A sazonalidade está associada com as diferenças de composição de um produto de acordo com a estação do ano no qual é coletado e analisado, estando diretamente relacionada com as condições climáticas do local, tais como índice pluviométrico, umidade relativa, velocidade dos ventos, luminosidade, ritmo circadiano, pressão atmosférica, temperatura, altitude, idade e estresse da planta (herbivoria, ataque de patógenos), dentre outros fatores. Tem importância essencial no perfil químico da própolis, afetando a coleta, transporte, formulação e comercialização dos produtos (TORETI, 2011; ARRUDA, 2019). Isso se deve ao fato de que todos esses quesitos interferem na biossíntese dos compostos ativos pelas plantas visitadas pelas abelhas. Não só os insetos são influenciados pelas mudanças das estações, como também as plantas se adaptam as diferenças de luminosidade, umidade e temperatura, produzindo maior ou menor quantidade de determinados compostos (LACERDA, 2012).

Um dos artigos escolhidos demonstra bem o impacto de alguns fatores de variação na capacidade antioxidante e na composição da própolis. CALEGARI *et al.* (2017) coletaram 15 amostras de própolis (Paraná, Brasil) provenientes de colmeias de abelhas africanizadas durante os meses de março a junho de 2013 e março de 2015. Após a produção de EEP (2:25 – Etanol 80%), testes antioxidantes pelos métodos DPPH, *FRAP*, ABTS foram realizados para todas as amostras, bem como a determinação de polifenóis, flavonoides e outros componentes por CLAE (CALEGARI *et al.*, 2017).

Os resultados indicaram que, no ano de 2013, houve uma maior capacidade antioxidante nas amostras produzidas no mês de março, o que pode indicar uma diferença na composição pela temperatura do ambiente na época da coleta. As abelhas trabalham mais quando expostas a temperatura acima de 25 °C e com umidade relativa entre 60% e 70% (CALEGARI *et al.*, 2017). Os insetos coletam essa resina no período mais quente do dia (acima de 18 °C) – e do ano -, já que fica mais fácil de se manusear a substância grudenta (PANDOLFO, 2014). Além disso, os períodos mais quentes favorecem a volatilização de compostos, o que permitem que os insetos encontrem as resinas com maior facilidade (FEEREIRA, 2019). Isso pode ser explicado, também, pela menor disponibilidade de material para a produção de própolis nas épocas frias. Além disso, é importante salientar que existem certas épocas do ano em que as abelhas tem maior afinco na coleta de néctar do que de própolis (ADELMAN, 2005).

Em relação a época do ano de escolha dos insetos para coleta do material base para a própolis, observa-se preferência pelos meses quentes do ano. Nos países do hemisfério norte, as abelhas concentram seus esforços no verão, final da primavera e início do outono (DA CUNHA, 2017). Devido ao Brasil possuir um vasto território, a coleta de própolis pode ocorrer o ano todo. É esperado, portanto, variações sazonais. Porém, devido as altas temperaturas constantes em grande parte do território brasileiro, não existem diferenças significativas entre os meses dos anos no Brasil, a depender da região analisada (PANDOLFO, 2014; DA CUNHA, 2017). Na região sudeste, há a diminuição da temperatura no inverno, ocasionando uma menor atividade das abelhas (CALEGARI *et al.*, 2017).

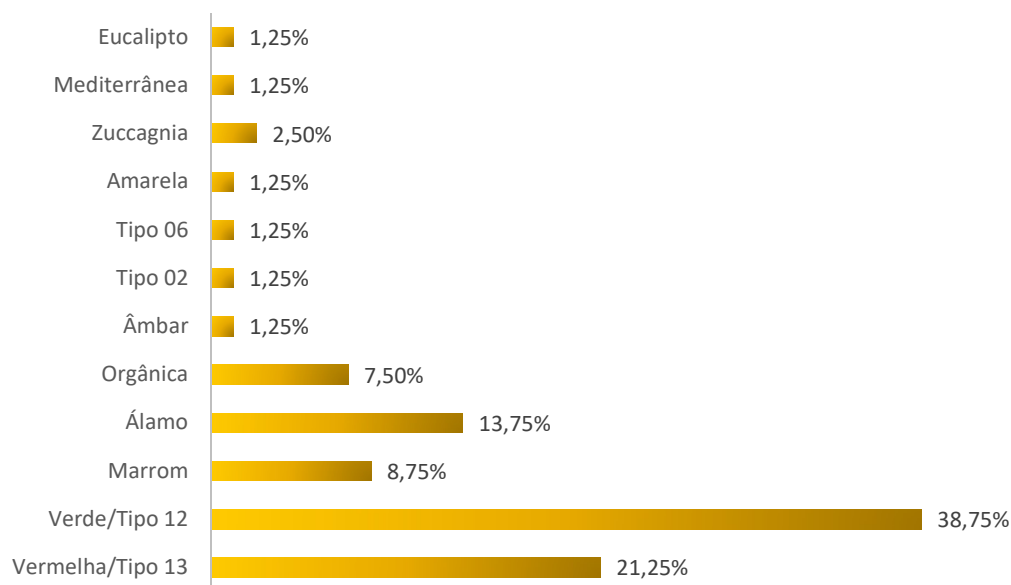
Dados diferenciando extrato aquoso do metanólico foram publicados por MIGUEL *et al.* (2014). Várias amostras de própolis foram coletadas na região de Algarve, em Portugal. Nesse caso, corroborando com os estudos anteriores, os maiores valores de compostos fenólicos foram encontrados no período mais quente da primavera. Além disso, o teor de fenóis encontrados foi cerca de quatro vezes maior no extrato metanólico, quando comparado com o aquoso; isso pode ser explicado pela descoberta de que a água não é um bom solvente para extrair compostos fenólicos nas amostras de própolis, embora alguns sejam polares (MIGUEL *et al.*, 2014).

Por fim, ainda no quesito da diferença por sazonalidade, ADELMAN (2005) afirma que as variações climáticas não são de grande relevância quando se analisa amostras de própolis provenientes das regiões temperadas do planeta, já que as abelhas coletam resinas durante apenas 4 meses, diferente do que ocorre no Brasil – coleta anual completa (PANDOLFO, 2014). De fato, alguns autores afirmam que a coleta de própolis no inverno deve ser evitada, a fim de poupar a colmeia de eventuais danos e prejuízos (LACERDA, 2012; PANDOLFO, 2014). Em regiões de clima temperado, a coleta da própolis ocorre antes do início do inverno. Nas zonas tropicais, o evento acontece no início da estação chuvosa (FALCÃO, 2013), quando ocorre o brotamento de novas plantas (LACERDA, 2012).

## **5.2 Tipos de própolis e fontes vegetais**

Dentre todos os trabalhos, apenas 35,26% descreveram explicitamente o tipo de própolis coletado. As mais estudadas foram, também, as mais comuns, vendidas e conhecidas na

literatura, como comentado anteriormente: própolis verde ou tipo 12 (38,75%), vermelha ou tipo 13 (21,25%) e de álamo (13,75%). Teve destaque, também, trabalhos que utilizaram-se de própolis orgânica, produzida no sul e sudeste do Brasil (7,50%) (Figura 10). A quantidade de trabalhos que especificaram a fonte vegetal da própolis foi ainda menor: 32,20% dos materiais trouxeram essa informação.



**Figura 10** Tipos de amostra de própolis utilizadas nas pesquisas dos trabalhos que compõem o acervo dessa revisão bibliográfica.

A identificação da fonte botânica da própolis vem ganhando espaço nas pesquisas mundiais. É uma tarefa bastante complexa, já que as abelhas são influenciadas por inúmeros fatores locais durante a coleta. Podem, por exemplo, coletar resinas de mais de uma fonte vegetal ou ter preferência por espécies escassas na região que circunda a colmeia (FERREIRA, 2019).

O controle da qualidade da própolis e sua padronização estão intimamente ligados com a descoberta da fonte vegetal desse produto natural, já que a grande maioria dos compostos ativos advém das resinas vegetais coletadas pelas abelhas. Inclusive, uma das melhores metodologias para indicar sua origem vegetal é a comparação do perfil químico das amostras de própolis com extratos de plantas da região de coleta das abelhas (TORETI, 2011;

MARCUSSI; GUTIERREZ-GONÇALVES, 2013). Para isso, os pesquisadores coletam amostras dos vegetais suspeitos de serem as prováveis fontes e realizam a comparação de seu perfil químico em laboratórios. Ainda, essa coleta pode ser feita diretamente das corbículas das abelhas e até mesmo de dentro da colmeia. Esse método é especialmente útil quando a coleta é realizada de uma única fonte, além de permitir a descoberta de marcadores químicos para ensaios de controle de qualidade. Como exemplo, pode-se citar a descoberta da fonte *B. dracunculifolia* da própolis verde (Figura 11), bem como o seu marcador, a artepilina C (FERREIRA, 2019).



**Figura 11** Exemplo de amostra de própolis verde coletada em um dos trabalhos da presente revisão bibliográfica. A) própolis em seu estado bruto; B) própolis após pulverização. Fonte: Adaptado de SALGUEIRO, 2016.

Além disso, essa análise resulta em dados que ajudam os apicultores a escolherem os melhores locais para estabelecerem suas criações de abelhas, a fim de otimizar a produção com melhores níveis de compostos de interesse, além de estimular o reflorestamento dessas plantas ao redor das colmeias. Isso aumenta o interesse por essa área produtiva e facilita o comércio com as empresas que desejam utilizar a própolis como um item farmacêutico, promovendo uma maior certificação de qualidade do produto (TORETI, 2011; PAULA, 2012; VARGAS TAPIA, 2018)

Outro método para conhecer a fonte botânica (uni ou multifloral) da própolis advém da análise do pólen nela presente (análise palinológica). Porém, esses dados não devem ser vistos como definitivos, já que o pólen pode prover de outras fontes, como as demais plantas visitadas para coleta de néctar ou pode ter sido trazido pelo vento. Por isso, os pesquisadores

estudam não somente o pólen nas amostras, mas também observam as estruturas morfológicas dos pedaços vegetais que ficam aderidos na própolis, como tecidos epidérmicos, tricomas filamentosos, glândulas e estômatos. Sabe-se, ainda, que a fonte botânica do pólen encontrado na própolis influencia suas características organolépticas, fenólicas e físico-químicas (PAULA, 2012; SÁNCHEZ *et al.*, 2020). Esse tipo de análise permite não somente encontrar as fontes botânicas, mas também de se observar de qual tecido da planta as abelhas coletam a própolis, como os brotos foliares (FERREIRA, 2019).

Ainda, pode-se obter tais dados através do estudo complementar por fotos e vídeos da rotina das abelhas *in loco*, acompanhando-as até as plantas propolíferas de escolha; ou até mesmo através da amplificação, por *PCR* (Reação em Cadeia da Polimerase), do *DNA* obtido nas amostras de própolis, a fim de se identificar as plantas. Esses, porém, são métodos menos utilizados (FERREIRA, 2019).

Sabe-se que as espécies vegetais mais visitadas por esses insetos são diversos tipos de coníferas, choupos (*Populus* spp.), faia (*Fagus sylvatica*), castanha de cavalo (*Aesculus hippocastanum*), vidoeiro (*Betula alba*), amieiro (*Alnus glutinosa*), olmos (*Ulmus* spp.), pinheiros (*Pinus* spp.), e carvalhos (*Quercus* spp.). A escolha da coleta muda de acordo com a região. Como já mencionado, nas regiões temperadas, há a maior prevalência de coleta de espécies de álamo, enquanto nas regiões tropicais, as abelhas visitam as plantas *Baccharis dracunculifolia*, *Dalbergia ecastopillum*, *Iptis divaricata* e *Clusia* spp. (FALCÃO, 2013; MARQUES, 2015).

No Brasil, os pesquisadores possuem ainda mais dificuldade em encontrar as espécies vegetais resiníferas, já que o país possui uma flora riquíssima, com grandes possibilidades de escolhas pelas abelhas (SALGUEIRO, 2016). Embora poucas fontes tenham sido identificadas, sabe-se que há a visita dos insetos às plantas assapeixe, aroeira, alecrim (TORETI, 2011), *Araucaria angustifolia* (pinheiro brasileiro) e *Eucalyptus citriodora* (eucalipto) (VARGAS TAPIA, 2018).

É importante ressaltar que a identificação da fonte botânica da própolis de uma determinada região não exclui a possibilidade de outras plantas também contribuírem para a constituição de seus componentes químicos, em menor quantidade. Ainda, sabe-se que as abelhas procuram fontes vegetais que supram as suas necessidades e adaptam-se de acordo

com o meio ambiente no entorno da colmeia (FALCÃO, 2013).

### 5.3 Metodologia de coleta da própolis

No que se refere a metodologia de coleta da própolis nas colmeias, apenas 24,43% dos trabalhos informaram como esse processo foi feito. As formas citadas foram: raspagem (46,51%), uso de grades/telas/armadilhas semelhantes (31,21%), ambos os métodos (13,95%), e um trabalho informou apenas que a coleta foi feita “com faca”.

Existem diversas formas de se coletar a própolis. A primeira delas, mais antiga e rústica, é o método de raspagem, que consiste no uso de espátulas ou outras ferramentas apropriadas, a fim de raspar todos os locais da colmeia nos quais as abelhas tenham depositado esse material resinoso. Há diversas desvantagens nesse processo, como a baixa produtividade, e a própolis obtida por ele geralmente é descartada pelas indústrias farmacêuticas. Isso ocorre pela contaminação das amostras por metais advindos das ferramentas, levando a oxidação dos compostos bioativos, ou outras contaminações durante o processo de raspagem, sendo pouco higiênica (ARANGUENA SALAZAR, 2019).

Como alternativa, tem-se o uso de malhas ou grades de plástico, que são adicionadas na colmeia (Figura 12). Como essas lâminas de plástico possuem furos, as abelhas os preenchem com própolis, a fim de proteger a colmeia de invasores e do frio. Na época da coleta, esse processo fica mais fácil e a própolis obtida pelas lâminas são reconhecidas como possuidoras de uma maior qualidade (ARANGUENA SALAZAR, 2019), pela menor presença de detritos (FALCÃO, 2013).



**Figura 12** Colheita da própolis com rede de plástico colocada no topo da colmeia. Fonte:

Adaptado de FALCÃO, 2013.

A partir do método de coleta, uma das classificações de qualidade da própolis pode ser realizada – deve-se lembrar, porém, que esse parâmetro não deve ser observado isoladamente, mas sim em conjunto com o perfil químico e testes de atividades biológicas de interesse. A de melhor qualidade é aquela que possui um odor agradável e característico, sem impurezas, com aparência granulada. A de segunda qualidade, intermediária, também é livre de impurezas, sendo coletada no alvado, na tampa e/ou nas paredes da colmeia. Por fim, a de terceira qualidade é aquela obtida pelo método de raspagem das paredes e da tampa da colmeia, e, por isso, possui impurezas diversas (KUNRATH; SAVOLDI, 2014).

#### **5.4 Extração e formas farmacêuticas**

Conquanto haja comércio de cápsulas com própolis bruta triturada (SALGUEIRO, 2016), esse produto natural geralmente não pode ser usado diretamente em sua forma original, devido a sua natureza pegajosa (DA CUNHA, 2017). É necessário que sejam removidos compostos indesejados primeiramente, como a cera, a fim de manter a fração de polifenóis. Por isso, existem várias formas de extração empregadas no processamento desse produto natural. Muitos fatores podem influenciar no rendimento e nos compostos extraídos, como o tipo de solvente, sua concentração, e as condições de extração, como a temperatura e o tempo de processo (OLDONI *et al.*, 2015; ANDRADE *et al.*, 2017). Essa é uma etapa essencial quando se pensa em análises de amostras com matrizes complexas (DE LIMA *et al.*, 2019b).

Inicialmente, faz necessária a redução do tamanho da partícula da própolis, a fim de otimizar a extração. Para isso, ela deve ser moída até um pó fino, geralmente com o auxílio de baixas temperaturas – sua natureza resinosa não permite trituração convencional (SALGUEIRO, 2016). Nessa revisão, 35,03% trabalhos realizaram apenas o procedimento de diminuição do tamanho de partícula, sem informações sobre congelamento, enquanto apenas 1 deles afirmou sobre o resfriamento da amostra, sem falar sobre cominuição. Aqueles que não informaram sobre a realização de nenhuma das ações somaram 39,55%, e os trabalhos que fizeram ambas (congelaram e diminuíram o tamanho de partícula das amostras) foram 24,86%.

Os equipamentos usados para reduzir o tamanho de partícula foram: moinho

(15,09%), liquidificador (10,32%), almofariz e pistilo (12,26%), pulverizador (0,94%) e 3,77% informaram que esse processo foi feito “manualmente”. Por fim, 57,55% dos trabalhos que realizaram essa ação não descreveram como ela foi feita.

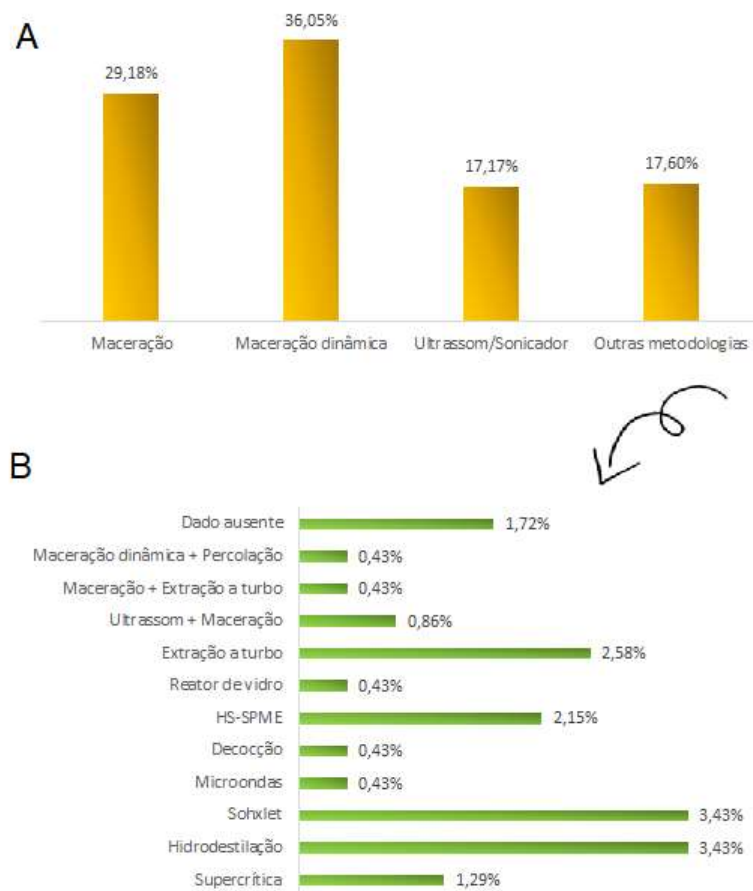
Com relação ao congelamento pré-cominuição, 62,22% não trouxeram detalhes sobre a metodologia. O uso de congelador foi explicitado por apenas 2,22% dos materiais, enquanto 33,33% apoiaram-se no uso de nitrogênio líquido. Apenas um deles citou o uso de “gelo”.

A técnica ideal de extração deve possuir altos níveis de rendimento, além de não ser destrutiva. As metodologias convencionais (sólido-líquido) ainda são muito populares, mesmo com as desvantagens de possuírem baixo rendimento, serem demoradas, e modificarem as amostras após extração, devido a degradação ocasionada por oxidação, hidrólise e ionização. Dentre as mais comuns, podem ser citadas maceração, processamento de alta pressão, ultrassom, irradiação gama, fluido supercrítico, Soxhlet e micro-ondas (CAVALARO, 2017; BAKKALOGLU; ARICI; KARASU, 2021).

Dentre os trabalhos dessa revisão, as metodologias mais aplicadas foram a maceração tradicional (29,18%) e a maceração dinâmica (36,05%), seguidas pelo uso de ultrassom (17,17%). Podem ser observados, ainda, métodos poucos usuais, como a extração de óleos essenciais por Soxhlet, hidrodestilação e HS-SPME (*Headspace Solid Phase Microextraction*) (Figura 13).

A maceração com solvente é uma das mais empregadas na extração da parte solúvel da própolis, chamada de bálsamo. É chamado de maceração o processo no qual a matéria-prima é colocada em contato com o solvente extrator, em recipiente fechado, geralmente em temperatura ambiente, por um período pré-determinado. Ocasionalmente, há agitações, e não se costuma trocar o líquido extrator (FIANCO, 2014). Quando a amostra e o solvente permanecem sob constante agitação, o processo passa a ser denominado maceração dinâmica. Industrialmente, é reconhecido como um processo simples e barato (ROCHA *et al.*, 2013).





**Figura 13** Metodologias de extração das amostras de própolis (bruta ou cominuída) escolhidas pelos autores dos trabalhos que compõem essa revisão bibliográfica. A) Metodologias predominantes; B) Desmembramentos de “outras metodologias”, usadas em uma menor frequência de vezes.

Nos últimos anos, a extração utilizando aparelho de ultrassom vem se popularizando no âmbito de extração de compostos bioativos advindos de fontes naturais (GARGOURI *et al.*, 2019). O uso de ultrassom na extração sólido-líquido possui vantagens com relação a maceração tradicional, tais quais a diminuição do gasto de energia, solventes, tempo e investimento financeiro, bem como a possibilidade de uma boa extração mesmo em temperaturas mais baixas, o que evita a degradação de compostos termosensíveis (CAVALARO, 2017; JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014). Dados da literatura afirmam que o rendimento de extração pode ser aumentado em até 24% com o uso dessa técnica, associado a menor quantidade de solventes e energia (“técnica verde”), além de haver a

possibilidade desse usar solventes alternativos (CAVALARO, 2017; CAVALARO; FABRICIO; VIEIRA, 2020). Tal aumento de rendimento advém de uma melhor transferência de compostos, devido à alta formação de cavitação. Existem dois modelos de equipamentos de ultrassom disponíveis. O banho ultrassônico possibilita uma melhor extração, por meio da solubilização dos componentes presentes na amostra em interação como solvente extrator, geralmente dentro de um recipiente de vidro submerso. Já a sonda ultrassônica possui uma sonda imersa no balão de extração, sendo considerada um método mais potente de extração (CAVALARO, 2017).

O trabalho desenvolvido por MONCAYO LUJÁN *et al.* (2018) comparou os métodos de extração por maceração convencional e ultrassom. Surpreendentemente, o extrato etanólico obtido por maceração apresentou melhor capacidade de extrair compostos fenólicos, obtendo melhor atividade antioxidante no teste de DPPH. Porém, o extrato obtido pela metodologia de ultrassom foi mais eficiente na extração de flavonoides.

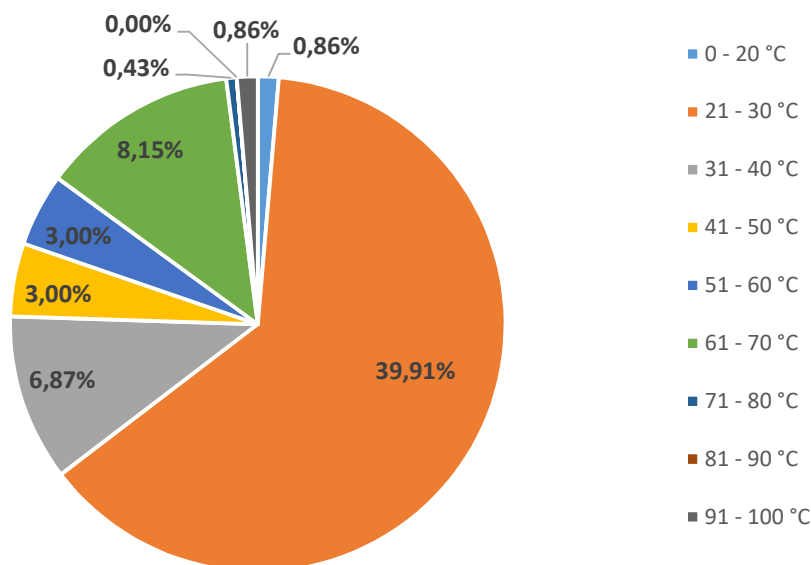
Outra forma de extração muito difundida para obter compostos orgânicos utiliza-se do equipamento de Soxhlet. É uma metodologia antiga para extração contínua a quente, contando com um destilador e um aparelho de condensação, ambos ligados com um recipiente principal de vidro, no qual está presente a amostra. Com o aumento da temperatura (geralmente, superior a 80 °C), o solvente escolhido evapora, carregando consigo componentes da amostra. Em cada ciclo, o solvente renovado entra novamente em contato com a própolis, promovendo uma extração eficiente quantitativa e qualitativamente, usando baixos volumes de solvente (SALGUEIRO, 2016; DE LIMA *et al.*, 2019b). É uma metodologia usada para obter os compostos voláteis, ou seja, seu óleo essencial (FALCÃO, 2013). Essa porção volátil da própolis não representa uma quantidade significativa das amostras, mas é útil para a avaliação de suas características organolépticas e ajuda na descoberta da sua fonte vegetal. Além disso, possuem atividades biológicas, tais como antimicótico, antiviral, antiparasitário, antioxidante, anticâncer e antidiabético (IKEDA, 2020).

Existem metodologias alternativas caso o objetivo da pesquisa científica seja a análise dos compostos voláteis da própolis: hidrodestilação com o auxílio do aparelho de Clevenger, destilação em um sistema de Likens-Nickerson e extração com solvente a vácuo (FALCÃO, 2013).

Outra metodologia para extração de compostos voláteis da própolis é a SPME (*Solid Phase Micro Extraction*), geralmente associado a um sistema *headspace* (HS-SPME). Considerada recente, acessível, rápida e não destrutiva, tem como base um princípio extrator semelhantes a análises cromatográficas. Inicialmente, ocorre retenção dos compostos presentes na amostra com a fase estacionária (absorção) e posterior dessorção da fibra. Esse processo depende de diversos parâmetros, tais como o tipo de fibra (carbowax-divenilbenzeno, PDMS- divenilbenzeno e carbozen-PDMS), temperatura, pH, força iônica, tempo de extração e volume da amostra (OLIVARES, 2006; HAMES-KOCABAS *et al.*, 2013).

É sabido que altas temperaturas aumentam a eficiência da extração de compostos fenólicos. Os mecanismos por trás disso são diversos. Há a diminuição da viscosidade, da densidade e da tensão superficial do solvente, permitindo uma melhor penetração na amostra, com maior superfície de contato. Porém, esse parâmetro deve ser cuidadosamente monitorado, pois o excesso de calor pode levar a evaporação do solvente, vaporização e decomposição de compostos ativos (DE OLIVEIRA; ANDOLFATTO, 2014; DE MORAIS *et al.*, 2021). Alguns autores afirmam que o processo extrativo deve ser performedo em temperaturas de até, no máximo, 80 °C, a fim de evitar tais perdas por oxidação e polimerização, prejudicando o rendimento da extração (SALGUEIRO, 2016).

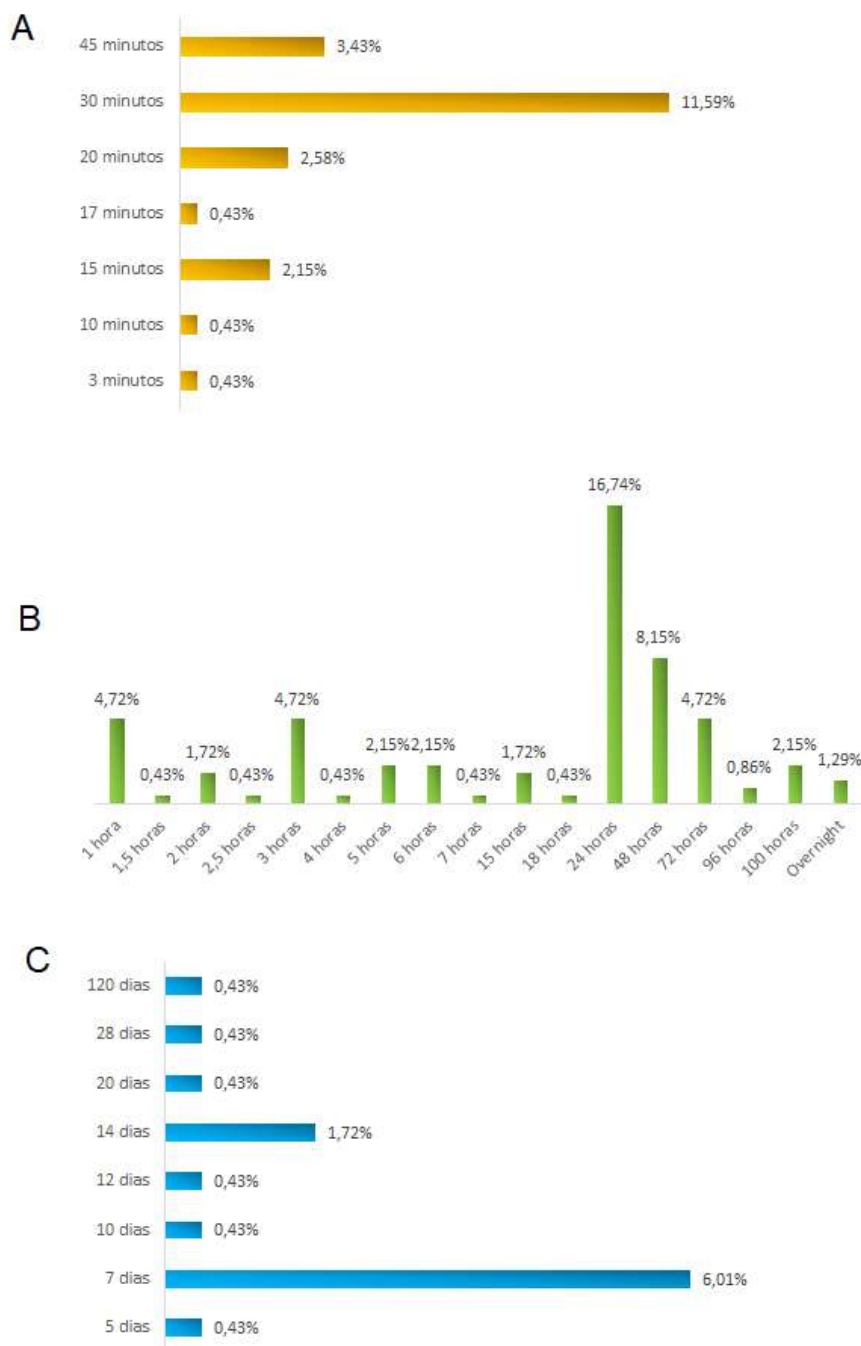
Dentre as descrições de metodologia da obtenção dos extratos usados nessa revisão, 69,10% dos autores informaram a temperatura na qual foi performeda a extração. Dados qualitativos foram usados por 1,72% deles, com expressões: “banho de gelo” (1,29%) e “aquecimento suave” (0,43%). Outros 4,29% utilizaram-se mais de uma temperatura, formando uma faixa; geralmente, essa forma de trabalho foi utilizada nos materiais que testaram diversas formas de extração, a fim de otimizar esse processo com relação a extração de compostos ativos e atividade biológica. Por fim, 63,09% dos materiais trouxeram dados quantitativos específicos das temperaturas escolhidas, que podem ser observados abaixo, na Figura 14.



**Figura 14** Temperaturas explicitadas de forma numérica nas metodologias de extração das amostras de própolis presentes nessa revisão bibliográfica.

As temperaturas preferidas foram aquelas situadas na faixa ambiente, entre 20 e 30 °C. Isso pode ser explicado pelo grande número de trabalhos que optaram por maceração como seu modo de extração e, muitas vezes, esse processo é realizado sem aquecimento. Além disso, são temperaturas seguras quanto a degradação de compostos bioativos, com baixo gasto de energia. Quando o aquecimento foi utilizado, preferiu-se temperaturas próximas ao 70 °C (8,15%), abaixo do ponto de ebulição do etanol (78,37 °C), o principal solvente dos extratos dessa revisão.

O tempo do processo extrativo é outro parâmetro de grande importância. Embora se pense que um tempo elevado de extração aumente a solubilização de uma maior quantidade de compostos, deve-se lembrar que um tempo muito alto aumenta a chance de ocorrência de reações de degradação, tais como oxidação e epimerização (DE MORAIS *et al.*, 2021). A depender dos parâmetros do processo, torna-se necessário acrescentar ao sistema agentes redutores (DE OLIVEIRA; ANDOLFATTO, 2014). Com relação aos autores dos trabalhos que compõem o acervo dessa revisão, 89,27% informaram os dados de tempo de extração (Figura 15).



**Figura 15** Tempo de extração das amostras de própolis escolhido pelos autores dos materiais selecionados para compor essa revisão. Os gráficos foram separados de acordo com a unidade de medida apropriada (A: minutos; B) horas; C) dias), a fim de garantir melhor visualização dos dados.

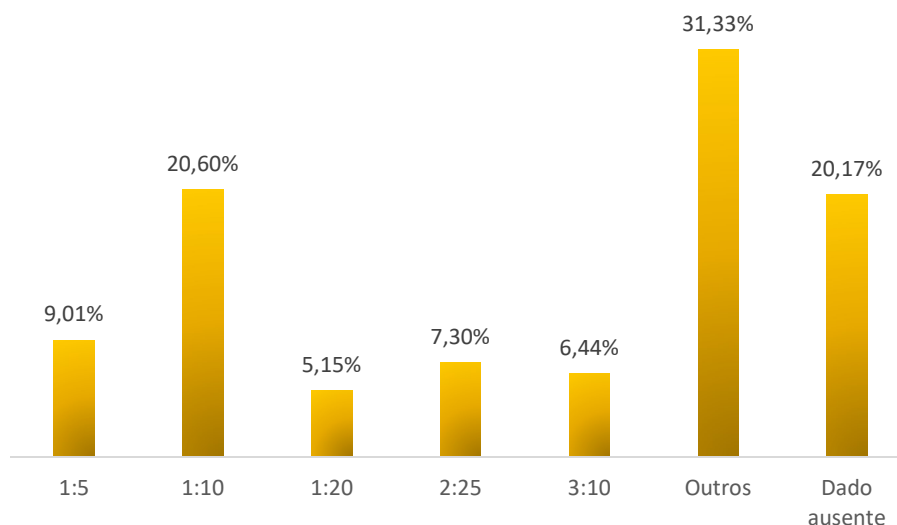
Podem ser feitas algumas correlações entre o tempo de extração e as metodologias

usadas. Por exemplo, autores que escolheram extração por ultrassom geralmente também optavam por deixar as amostras em contato com o solvente durante 30 minutos. Ainda, aqueles que utilizavam Soxhlet realizavam o processo durante 6 horas. A maceração obteve a maior quantidade de variações no tempo de extração. Por fim, cerca de 4,72% dos autores trabalharam com vários tempos de extração, não sendo adicionados aos gráficos. Assim como no caso da temperatura, estavam estudando otimização de extração.

Soma-se a esses parâmetros de importância a proporção entre a quantidade de amostra e o volume de solvente, já que pode influenciar diretamente na eficiência de extração dos compostos, ao promover saturação do líquido. Nessa revisão, como pode ser visualizado na Figura 16, os autores que informaram esses dados optaram, majoritariamente, pelas proporções de 1:5, 1:10, 1:20, 2:25 e 3:10 (g/mL). Outras diversas proporções foram usadas, como por exemplo 1:1, 1:15, 1:25, 1:30, 1:50, 3:15, 5:12, dentre outras.

Outra metodologia de extração que vem se popularizando é a extração supercrítica, caracterizada pela solubilização de substâncias de uma matriz sólida ou líquida em um solvente supercrítico. Tem como base a compressão do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) em temperaturas e pressões acima do seu ponto crítico (31 °C; 73 bar), até que se torne liquefeito. Nesse momento, o CO<sub>2</sub> atinge seu ponto crítico, no qual tem propriedades especiais, tais como a baixa viscosidade típica de um gás e a grande capacidade de dissolução dos líquidos. Quando entra em contato com a amostra, dissolve os compostos de interesse, que posteriormente depositam-se após o solvente torna-se novamente um gás (FIANCO, 2014).

Dentre as vantagens dessa técnica, pode ser citado o fato de que o solvente não é inflamável e explosivo, além de não ser tóxico e não deixar resíduos; portanto, o produto final dessa extração é considerado seguro (*GRAS*). A técnica pode ser desenvolvida em baixas temperaturas, evitando perdas ocasionadas pelo calor. A extração supercrítica é vista como uma técnica limpa, não poluente, além de possui versatilidade advinda do controle dos diversos parâmetros que afetam a extração, como pressão e temperatura (FIANCO, 2014; MACHADO *et al.*, 2016; DEVEQUI-NUNES *et al.*, 2018).



**Figura 16** Proporção (g/mL) entre a massa de amostra de própolis e volume de líquido extrator utilizado nos trabalhos da presente revisão bibliográfica.

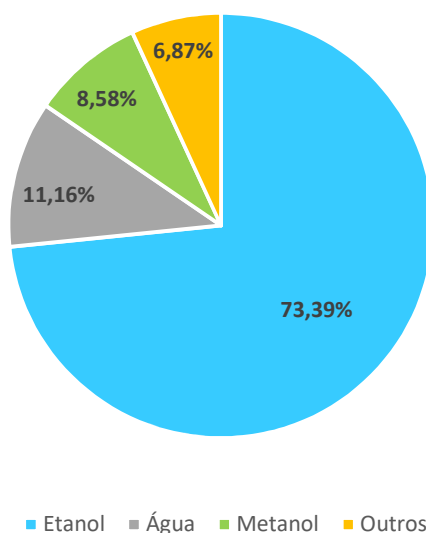
Outro ponto interessante é que podem ser adicionados outros solventes durante a extração, a fim de alterar a polaridade e extrair uma maior diversidade de classes químicas. Isso tem importância crucial na extração de amostras de própolis, já que estas não são solúveis em CO<sub>2</sub>; isso ocasiona um baixo rendimento do processo, devido à grande porcentagem de ceras e resinas, que, além de dificultar a extração por não permitirem a passagem do fluido por toda a matriz da amostra, ainda acumulam-se no equipamento. Para contornar essa questão, pode-se adicionar etanol a extração (FIANCO, 2014), técnica utilizada por 2 dos 3 trabalhos que usaram extração supercrítica.

O trabalho conduzido por DEVEQUI-NUNES *et al.* (2018) demonstrou melhores taxas de rendimento de extração e melhor atividade antioxidantes nos extratos obtidos por maceração com etanol, em relação a extração supercrítica com co-solvente etanol 1% (DEVEQUI-NUNES *et al.*, 2018). O mesmo foi observado no trabalho de MACHADO *et al.* (2016); porém, embora a extração total tenha sido mais satisfatória com a maceração convencional, o processo supercrítico com CO<sub>2</sub> teve maior taxa de sucesso em extrair compostos vistos como marcadores, como a artepilina C e o ácido p-cumárico. Portanto, pode-se inferir que, embora a eficiência total de extração tenha sido baixa, essa é uma técnica

seletiva (MACHADO *et al.*, 2016). Diante desse quadro, alguns autores afirmam que a extração supercrítica pode ser usada como um pré-tratamento da própolis, antes que seja extraída com etanol, (DEVEQUI-NUNES *et al.*, 2018) ou em situações nas quais se deseja obter frações da própolis ricas em compostos lipofílicos (MACHADO *et al.*, 2016).

Tendo em vista que a própolis possui uma grande variedade de classe de compostos, necessita-se, também, de diversidade de solventes, a fim de se extrair a maior quantidade possível de componentes (WAGH, 2013). Esse processo visa a separação da parte balsâmica (resinas), na qual se encontra os compostos bioativos, daquela insolúvel (“borra” da própolis), que não conta com grande proporção de atividades biológicas (SALGUEIRO, 2016).

A Figura 17 mostra a preferência dos autores dos trabalhos selecionados nessa revisão.



**Figura 17** Solventes utilizados pelos trabalhos dessa presente revisão, durante o processo de extração das amostras de própolis. Os dados “outros” englobam: CO<sub>2</sub>, na extração supercrítica (1,29%), propilenoglicol (1,29%), hexano (0,43%), DMSO (0,86%), pentadieno + dietil éter (1:2) (0,43%), DMSO + acetonitrila + água (1:2:7) (0,43%) e extração com HS-SPME (2,15%).



O metanol é o meio extrator com a maior capacidade de extrair classes de substâncias, tais como saponinas, antocianinas, lactonas, polifenóis, dentre outros (WAGH, 2013). Porém, apesar da excelente eficiência de extração, esse solvente mostra-se altamente tóxico, sendo inviável para uso nos organismos. Geralmente, o extrato metanólico de própolis (EMP) é usado em pesquisas científicas de estudo químico (TORETI, 2011; SALGUEIRO, 2016). É possível usar outros solventes, tais como acetona, para extrair flavonóis; clorofórmio, para flavonoides e terpenoides; e diclorometano, para terpenoides, taninos, esteróis e alcaloides. Caso seja necessário extrair ácidos graxos e cumarinas, o único solvente possível é o éter (WAGH, 2013).

Embora não tão comuns, extrações usando água como solvente podem ser encontradas. Geralmente, os chamados Extratos Aquosos de Própolis (EAP) apresentam-se opacos, devido a não solubilização de componentes hidrofóbicos. São usados em formulações que não toleram a presença de solventes orgânicos, como em aerossóis ou pós para nebulização (ADELMAN, 2005), pois apresentam menor toxicidade (WAGH, 2013). A água, como composto polar, consegue solubilizar apenas uma pequena parte das substâncias da própolis – cerca de 10% (JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014; SUN *et al.*, 2015), sendo encontrados nos extratos basicamente ácidos fenólicos, com ausência das substâncias lipofílicas (FALCÃO, 2013).

A fim de otimizar a extração utilizando a água como solvente, o trabalho de MELLO; HUBINGER (2012) extraiu amostras de própolis com água em diferentes pHs (2,0 – 8,0). Foi observado que a acidificação de pH não teve melhoras significativas na extração. Esse quadro tem como base uma provável hidrólise ácida de polifenóis a agliconas, menos solúveis em água. Porém, o aumento no pH (entre 6,0 e 8,0) conseguiu melhorar a quantidade de compostos fenólicos e flavonoides extraídos, e, conseqüentemente, também teve bons resultados nos testes antioxidantes. Isso pode ser explicado pelo fato de que compostos fenólicos possuem muitos grupos ácidos, que em pH alcalino, desprotonam-se, tornando-se mais solúveis em água e mais facilmente extraídos. Essa é uma estratégia que pode ser utilizada a fim de melhorar o rendimento de extração de compostos bioativos mesmo quando se usa extratos aquosos (MELLO; HUBINGER, 2012).

Ainda, a literatura traz a possibilidade de se usar meios extratores com a presença de glicerol e propilenoglicol, com alta eficiência de extração de compostos fenólicos e

flavonoides, mesmo quando comparados com extratos metanólicos e etanólicos (SALGUEIRO, 2016).

O etanol é o solvente mais popular para extração da própolis, como já mencionado, devido as suas características anfífilas de solubilizar tanto substâncias polares quanto apolares (DE LIMA *et al.*, 2019b). Tem a capacidade de extrair principalmente alcaloides, terpenoides, taninos, esteroides, poliacetilenos e polifenóis (WAGH, 2013), com a habilidade de solubilizar cerca de 50 a 70% dos constituintes da própolis (JUG; KONČÍČ; KOSALEC, 2014). Além disso, o etanol não é tóxico e pode ser facilmente removido das formulações posteriormente, promovendo a chamada química segura (SALGUEIRO, 2016; GARGOURI *et al.*, 2019). Porém, deve-se ter em mente que nem todos os tipos de álcool etílicos são seguros para uso humano, já que podem conter impurezas e aditivos, como o próprio metanol. Para tais finalidades terapêuticas, recomenda-se o uso de álcool de cereais ou outros, de grau alimentício (SALGUEIRO, 2016). Apenas 0,86% dos trabalhos dessa revisão especificaram o uso de álcool próprio para consumo humano.

Soma-se as vantagens apresentadas, ainda, o fato de que a temperatura de ebulição do etanol (78 °C) não degradar substâncias fenólicas, permitindo o uso de técnicas com aquecimento, além da maceração habitual – embora esse seja considerado o método mais adequado para a extração da própolis (SOUSA *et al.*, 2019). Por fim, o álcool etílico não é caro e tem baixo impacto ambiental, sendo obtido por vias renováveis (SALGUEIRO, 2016).

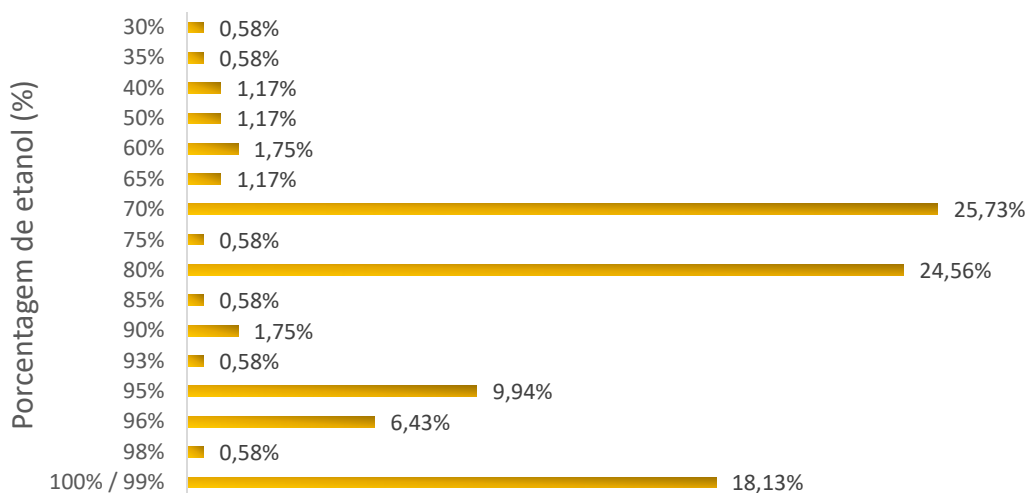
A extração etanólica é considerada “de referência” pelos apicultores, preparando, assim, tinturas comerciais populares (BUCIO-VILLALOBOS; MARTÍNEZ-JAIME, 2017). Quanto maior a parte solúvel em etanol (resinas), maior será o rendimento do extrato e maior a qualidade do produto final, já que os constituintes biológicos encontram-se ali (GARCÍA *et al.*, 2010). Segundo a legislação brasileira, o extrato de própolis é definido como “produto proveniente da extração dos componentes solúveis da própolis em álcool neutro (grau alimentício), por processo tecnológico adequado” (BRASIL, 2001; KUNRATH; SAVOLDI, 2014).

Geralmente, é usada uma proporção na mistura entre solventes orgânicos e água, gerando melhores resultados extrativos de compostos fenólicos (WAGH, 2013), sendo as mais populares concentrações de etanol entre 70% e 80%, as quais geram soluções coloridas,

límpidas e densas. O Ministério da Agricultura (Anexo VII da Instrução Normativa nº 11, de 20/10/2000 do Ministério da Agricultura) afirma que os extratos alcóolicos de própolis não devem ultrapassar a porcentagem de 70% de etanol (BRASIL, 2000).

O trabalho realizado por SUN *et al.* (2015) demonstrou que, dentre as várias proporções de etanol e água utilizadas (0; 25; 50; 75 e 100%), a mistura de etanol 75% obteve os melhores resultados de extração de polifenóis e flavonoides totais (SUN *et al.*, 2015).

Como a concentração de solventes usados para o preparo dos extratos de própolis influencia no rendimento da extração de compostos bioativos e, conseqüentemente, na sua atividade biológica (SHAHBAZ *et al.*, 2021), são apresentados abaixo os dados constantes nos trabalhos da presente revisão bibliográfica, para extratos etanólicos em água (Figura 18). Foram deixados de fora os dados que usaram faixas de proporções (4,68%). Dentre os materiais que fizeram uso de extratos metanólicos, 65% optaram pelo solvente puro. Ainda, apareceram: metanol 90% (10%), metanol 80% (10%), metanol 65% (5%), metanol 50% (5%) e metanol 40% (5%), todos em proporção com água. Os outros solventes foram utilizados em sua forma pura.



**Figura 18** Proporções entre etanol e água escolhidas pelos autores dos materiais dessa revisão, a fim de performar os processos de extração das amostras de própolis.

Porém, existem desvantagens ao escolher esse tipo de técnica. Extratos etanólicos líquidos são geralmente associados à dificuldade de transporte, acondicionamento e formulação. Não são adequados para todos os tipos de consumidores, tais como crianças e aqueles que não ingerem bebidas alcólicas, seja por motivos pessoais ou por possuírem intolerância, bem como problemas de saúde que seriam prejudicados pelo consumo, como graves patologias hepáticas. Ainda, esses extratos possuem um forte sabor e odor desagradável, o que torna difícil a aceitação por alguns consumidores (JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014). Esse fator prejudica, também, o uso da própolis em formulações alimentícias, já que altera as propriedades organolépticas do produto, devido à grande presença de compostos fenólicos, responsáveis pelo forte sabor amargo e adstringente. No mercado, pode ser encontrados produtos com cerca de 3 a 30% de extratos de própolis (OSÉS *et al.*, 2016; DE FRANCISCO *et al.*, 2018).

A fim de buscar soluções para os problemas supracitados, diversos trabalhos na literatura propuseram o uso da própolis em formulações contendo formas de liberação modificada. Já foram testadas micropartículas (ANDRADE *et al.*, 2018), microcápsulas (NORI *et al.*, 2011; TIVERON, 2015 ; DA CRUZ ALMEIDA *et al.*, 2017; DE ALMEIDA, 2017; ALVES, 2018; DO NASCIMENTO *et al.*, 2019), nanopartículas (DO NASCIMENTO *et al.*, 2016; FARIAS AZEVEDO *et al.*, 2018; SHUBHARANI; MAHESH; YOGANANDA MURTHY, 2019), nanocarreadores (PERMANA *et al.*, 2020), outros tipos de carreadores (DA SILVA *et al.*, 2013) e formulações (LUIS-VILLAROYA *et al.*, 2015; IRIGOITI; YAMUL; NAVARRO, 2021; SALAS *et al.*, 2018), além do uso da própolis após processo de *spray-dryer* (DA SILVA *et al.*, 2013; KUNRATH; SAVOLDI, 2014; DA CRUZ ALMEIDA *et al.*, 2017).

A técnica de *spray-dryer* consiste na rápida transformação para formas sólidas dos produtos líquidos ou semissólidos, por meio de um único processo de secagem. É amplamente usada pela indústria quando se deseja promover evaporação do solvente de forma rápida, em formulações as quais são sensíveis a altas temperaturas. Esse processo resulta na formação de gotas atomizadas, sendo uma parte essencial da produção de microcápsulas (DE ALMEIDA, 2017; DO NASCIMENTO *et al.*, 2019).

Os trabalhos de DO NASCIMENTO *et al.* (2016) e de FARIAS AZEVEDO *et al.* (2018) produziram nanopartículas com a própolis vermelha, e conseguiram encapsular

satisfatoriamente seus compostos fenólicos ativos, promovendo boa atividade antioxidante e anti-leishmaniose (DO NASCIMENTO *et al.*, 2016; FARIAS AZEVEDO *et al.*, 2018).

Existem diversas vantagens ao se utilizar a própolis dessa maneira. Pode-se mascarar o sabor desagradável, facilitando a administração, além de proteger as moléculas bioativas de processos degradativos que geralmente ocorrem devido a presença de oxigênio, luminosidade e calor; esse aumento de estabilidade também leva a um aumento da vida de prateleira do produto. Ainda, há uma maior biodisponibilidade de substâncias quando se usa tais sistemas, em especial, com relação a flavonoides (NORI *et al.*, 2011; DA CRUZ ALMEIDA *et al.*, 2017; ANDRADE *et al.*, 2018). Sabe-se que os compostos bioativos, no geral, tem difícil solubilidade (ANDRADE *et al.*, 2018) e baixos perfis de dissolução, o que dificulta a permeação pelas membranas dos tecidos corporais (PERMANA *et al.*, 2020). Ainda, essas formulações permitem uma eliminação mais lenta do organismo, aumentando a biodisponibilidade dos compostos, e diminuindo sua toxicidade sistêmica ao promover a entrega localizada dos ativos (DO NASCIMENTO *et al.*, 2019). Por fim, outra estratégia usada a fim de mascarar as características desagradáveis da própolis é a sua associação com ingredientes doces, como mel, flavorizantes e adoçantes (IRIGOITI; YAMUL; NAVARRO, 2021).

Geralmente, tais formulações especiais são fabricadas com matérias-primas biocompatíveis e biodegradáveis, sendo, portanto seguras para uso humano (*GRAS*) e não prejudiciais ao meio ambiente. Esses biopolímeros também não apresentam altos custos a indústria (DO NASCIMENTO *et al.*, 2019).

Alguns trabalhos dessa revisão promoveram estudos que buscavam otimizar a extração dos compostos, comparando parâmetros como temperatura, tempo de extração e concentração do solvente. OLDONI *et al.* (2015) encontraram que, dentre as combinações testadas, a que demonstrou melhor capacidade extrativa e antioxidante foi o processo que utilizava etanol 80% (etanol:água), 70 °C e 45 minutos de extração (OLDONI *et al.*, 2015). Já CAVALARO (2017) encontrou proporção de 1:30 (entre amostra e solvente) e 25 minutos de extração como a melhor combinação de parâmetros (CAVALARO, 2017). DE OLIVEIRA; ANDOLFATTO (2014) obteve como melhores parâmetros concentração de etanol de 80%, tempo de extração de 45 minutos e temperatura de 70 °C (DE OLIVEIRA; ANDOLFATTO, 2014). BAKKALOGLU; ARICI; KARASU (2021) estudaram os efeitos

do uso de maceração dinâmica convencional e extração por ultrassom, obtendo uma melhor extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante pelo método de ultrassom (BAKKALOGLU; ARICI; KARASU, 2021).

A literatura sobre o tema ainda traz novas possibilidades para um melhor aproveitamento da extração da própolis. Inicialmente, a parte que é extraída por solventes possui muitos compostos bioativos. Porém, as sobras dessa extração, com componentes que não foram solubilizados, geralmente são descartadas. Atualmente, estudos demonstram a possibilidade de usar, também, esses descartes, chamados de “co-produtos”. Sua composição é rica em ceras, resinas e gomas, com grande potencial de ser usado como agente estruturante. Ainda, outro potencial uso é servir como matéria-prima para outras subseqüentes extrações, a fim de esgotar as substâncias ativas de interesse industrial. Esse tipo de pesquisa mostra-se especialmente importante nos dias de hoje, devido ao anseio em diminuir o desperdício de alimentos e matérias-primas, além do impacto ambiental (DE FRANCISCO *et al.*, 2018; IKEDA, 2020).

Os grandes apiários já estão mais acostumados em performar a extração mais de uma vez, aproveitando melhor os descartes. Porém, isso não é comum na rotina dos pequenos produtores (CORREA *et al.*, 2016). Embora seja uma área muito interessante e inovadora, esses dados não foram explorados na presente revisão bibliográfica.

## **5.5 Atividade antioxidante**

A atividade antioxidante pode ser definida, de forma simples, como a capacidade redox em eliminar compostos oxidantes. Há uma grande quantidade de estudos comprovando a ação antioxidante de amostras de própolis – segundo CASTRO *et al.* (2014), ela possui a maior atividade dentre todos os produtos da colmeia (CASTRO *et al.*, 2014). Esse poder se deve, principalmente, a sua composição química rica em compostos bioativos, como flavonoides e outros compostos fenólicos (KUMAZAWA *et al.*, 2013; PANDOLFO, 2014; CAO *et al.*, 2017).

Isso torna esse produto natural um alvo importante de estudos para novos fármacos e produtos cosméticos antienvhecimento, já que estudos mostram que a própolis possui pelo menos dois mecanismos de inibir a formação de compostos pró-oxidantes: captação de radicais livres e redução de íons metálicos em solução (GONÇALVES; SANTOS;

SREBERNICH, 2011; RAMÓN-SIERRA *et al.*, 2019), como o cobre, um importante iniciador de processos oxidativos de lipídeos de baixa densidade (SULAIMAN *et al.*, 2011). Ainda, foi descoberto que a própolis consegue interagir com o sistema enzimático da xantina oxidase, precavendo a produção de radicais superóxido, bem como tem a capacidade de diminuir o consumo de glutatona (YONAR *et al.*, 2017).

Os compostos fenólicos são uma classe de moléculas formados por pelo menos um anel aromático com grupos hidroxilas ligados (PANDOLFO, 2014). Isso as torna capazes de doar elétrons e, assim, estabilizar os radicais livres do meio; podem atuar tanto no início quanto na propagação das reações oxidativas (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; BONAMIGO *et al.*, 2017). Além disso, essas substâncias podem inibir enzimas, tais como a xantina oxidase, proteína quinase C, ácido ascórbico oxidase, impedindo a produção de EROs (ADELMAN, 2005; BONAMIGO *et al.*, 2017; CAO *et al.*, 2017), bem como quelar metais de transição (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011).

Dentre os compostos fenólicos presentes na própolis, podem ser citados como exemplo ácidos fenólicos e seus ésteres (ADELMAN, 2005). As moléculas de rutina e apigenina, ambos flavonoides comumente encontrados nas resinas, são reconhecidas como antioxidantes naturais (BONAMIGO *et al.*, 2017). Soma-se a esses compostos a galangina e pinocembrina (WAGH, 2013)

O controle da qualidade da própolis costuma ser feito com base no rendimento da extração, quantidade de compostos fenólicos e análise da atividade antioxidante desse material natural (KASOTE *et al.*, 2017). Essa atividade tão importante é um dos principais fatores para que a própolis tenha, ainda, tantas outras utilidades, como neuro e hepatoproteção. Uma das aplicações mais viáveis desse poder antioxidante é no tratamento de feridas cutâneas. Isso se deve ao fato de que a produção exacerbada de radicais livres dificulta a cicatrização e cura desses processos inflamatórios (CAO *et al.*, 2017). Uma revisão bibliográfica conduzida por BARBOSA *et al.* (2009) concluiu que os estudos realizados até o momento mostravam boas perspectivas para o uso da própolis nesse ramo, sendo notado o crescimento da atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e de neoangiogênese nos tecidos (BARBOSA *et al.*, 2009).

Ainda, essa habilidade da própolis pode ser empregada no tratamento de outras

enfermidades, tais como glaucoma, neuropatias oculares advindas de complicação da diabetes e isquemias cerebrais, já que todos esses casos são agravados pelo estresse oxidativo (LACERDA, 2012).

Existem diversos métodos para a avaliação da capacidade antioxidante, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, já que as amostras a serem analisadas também diferem muito entre si. Aqueles *in vitro* podem ser realizados por meio de ensaios instrumentais, colorimétricos, biológicos e eletroquímicos. Possuem a desvantagem de não conseguirem levar em consideração fatores biológicos, como biodisponibilidade, transporte e absorção por tecidos orgânicos e estabilidade no organismo (CAVALARO, 2017).

Geralmente, os estudos trazem mais de um método para avaliação de uma mesma amostra, conferindo maior credibilidade aos dados. Quando se observa os resultados obtidos por diferentes metodologias, nota-se que existem diferenças. Isso se deve ao mecanismo de reação e da natureza das condições nas quais os radicais são gerados (ANDRADE *et al.*, 2018). Cada metodologia possui vantagens, desvantagens e limitações, com diferentes mecanismos de reação, complexos, solubilidades e compostos. Porém, a maioria delas tem foco no sequestro de radicais livres (LACERDA, 2012; KASOTE *et al.*, 2017). No geral, as metodologias possuem um agente oxidante, um substrato e uma forma de se medir o estado final do meio reacional (DE CARVALHO, 2011). Para a escolha do melhor método de estudo, deve-se levar em consideração a matriz da amostra, sua forma de preparo e a solubilidade do antioxidante (CALEGARI, 2018).

Esses ensaios podem ser divididos em duas categorias. São chamados de ensaios indiretos aqueles que estudam a transferência de elétrons, após provocada uma reação de óxido-redução. Ocorre a mudança de coloração que pode ser percebida por aparelhos espectrofotométricos, quando a substância oxidante reage com a antioxidante. São normalmente usados para análise *in vitro*, sendo baseados no sequestro de radicais livres gerados no meio, capacidade de doação do átomo de hidrogênio ou de elétrons. Os métodos diretos, geralmente usados *in vivo*, estudam a cinética de uma reação química (LACERDA, 2012; PANDOLFO, 2014).

Outra forma de classificação dos testes antioxidante é agrupá-los de acordo com o seu mecanismo de ação. Os chamados métodos *HAT* (*Hydrogen Atom Transfer*) são aqueles



que medem a capacidade antioxidante de uma molécula pela desativação ou eliminação de radicais livres por meio da doação de átomos de hidrogênio. São metodologias dependentes de fatores como tipo de solvente e pH, além de possuírem interferências de agentes redutores. Em grande parte dos casos, o ensaio ocorre por meio da competição entre o antioxidante e o substrato pelos radicais livres gerados no meio de reação. Tem como vantagem a rápida finalização (minutos ou segundos), podendo ser estudada a cinética de reação (CAVALARO, 2017; CALEGARI, 2018; VARGAS TAPIA, 2018).

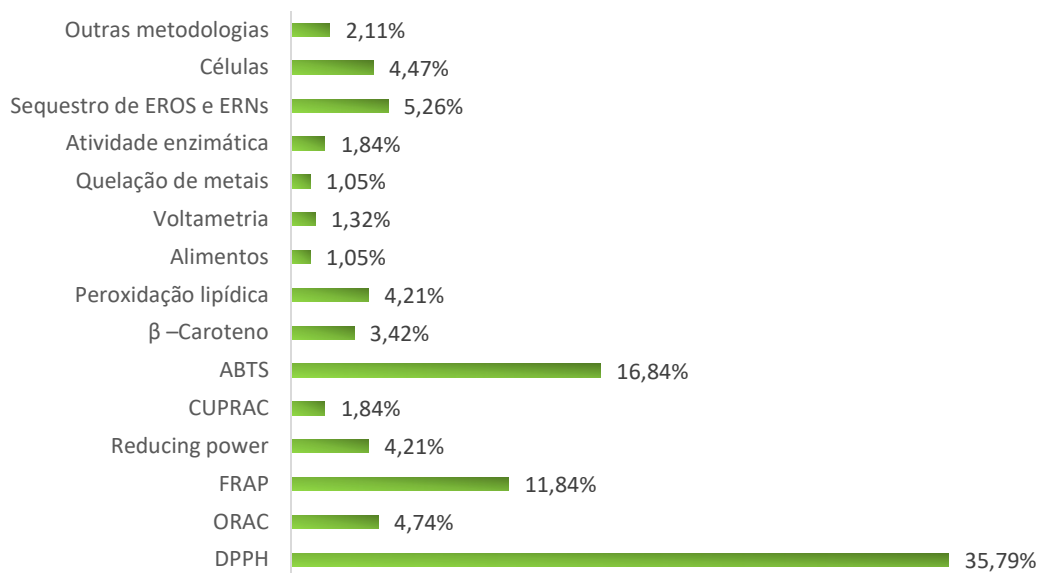
Já os métodos SET (*Single Electron Transfer*) realizam seu papel redutor por meio da doação de elétrons, estabilizando as moléculas instáveis oxidantes ou metais. É considerado uma classe de testes mais lentas e geralmente é expresso como porcentagem de redução de algum produto. Geralmente, o teste é medido por meio da mudança de cor quando ocorre reações de oxirredução, estando essa diretamente relacionada com a quantidade de antioxidante presente na amostra (CAVALARO, 2017; CALEGARI, 2018; VARGAS TAPIA, 2018).

Na presente revisão bibliográfica, os materiais analisaram a atividade antioxidante por metodologias *in vitro* (93,75%), *in vivo* (5,11%) e 1,14% mesclaram ambas as formas. 29,71% dos materiais utilizaram-se de apenas um teste antioxidante para avaliar as amostras de própolis, sendo este, geralmente, o DPPH; a grande maioria (70,29%) optou por mais de uma metodologia de análise.

Os principais métodos *in vitro* escolhidos pelos autores estão apresentados nos tópicos abaixo, além de estarem representados graficamente na Figura 19. Os dados referentes a “outras metodologias” incluem técnicas usadas com menor frequência, como Fosfomolibdênio. Já o tópico de “peroxidação lipídica” faz menção a outras técnicas de avaliação da atividade antioxidante contra sistemas lipídicos, além do sistema caroteno/ácido linoleico.

Alguns trabalhos obtiveram excelentes resultados para a atividade antioxidante das amostras de própolis. Inclusive, alguns deles obtiveram resultados semelhantes (BONAMIGO *et al.*, 2017) ou até mesmo melhores do que os padrões de referência usados, amplamente reconhecidos como bons antioxidantes, como a quercetina e o BHT (FIANCO, 2014; DE SOUZA *et al.*, 2018; JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014; VALENTE *et al.*, 2011;

CASTRO *et al.*, 2014; SALAS *et al.*, 2016; JANSEN, 2015; DA GRAÇA MIGUEL *et al.*, 2014; DUCA *et al.*, 2019; EL SOHAIMI; MASRY, 2014; FALCÃO, 2013; MENDEZ-PFEIFFER *et al.*, 2020; SHUBHARANI; MAHESH; YOGANANDA MURTI, 2019).



**Figura 19** Métodos *in vitro* utilizados pelos materiais que compõem o acervo da presente revisão bibliográfica.

Os trabalhos que incluíram metodologias *in vivo* analisaram a atividade enzimática, níveis de oxidação de proteínas, peroxidação lipídica pelo método TBARs (*Thiobarbituric acid reactive substances*), produção de EROs, sobrevida celular, além da análise histológica dos tecidos.

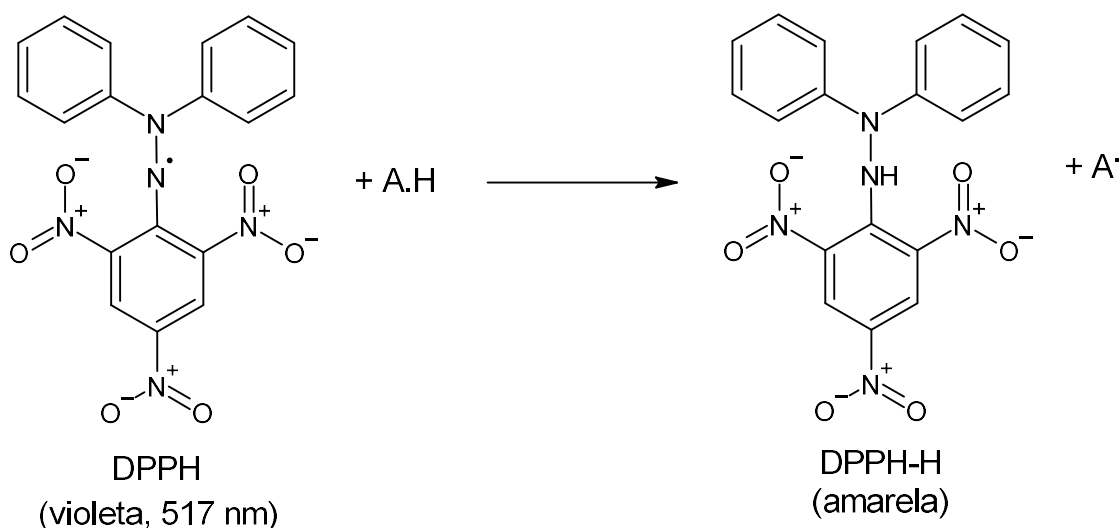
Serão apresentados a seguir resultados mais detalhados dos trabalhos que compreendem o acervo dessa revisão, com enfoque nos valores obtidos para a atividade antioxidante, bem como a composição química. As tabelas foram organizadas de forma a mostrar a referência do material e os valores dos resultados dos respectivos testes. Aqueles que aparecem unidos ao termo “aproximadamente” foram valores retirados de gráficos, cujos números específicos não foram relatados nos trabalhos.

### 5.5.1 Eliminação de radicais DPPH<sup>•</sup> (1,1-difenil-2-picrilidrazil)

Inicialmente sugerido em 1950 por Blois, é considerado um método indireto e antigo de avaliação da atividade antioxidante, extremamente utilizado, prático e simples, estável na ausência de luz, e muito sensível (CAVALARO, 2017; OLIVEIRA, 2015; SALGUEIRO, 2016). É popular quando se deseja avaliar produtos apícolas (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011).

O método consiste na análise da atividade e sequestradora do radical livre 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH<sup>•</sup>) por meio de espectrofotometria, na faixa de absorção máxima de 515 nm, quando solubilizado com etanol ou metanol (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; PANDOLFO, 2014).

Quando há um antioxidante no meio, o DPPH sofre uma reação de redução (Figura 20), por meio da transferência de elétrons ou átomos de hidrogênio, com a formação de difenil-picril-hidrazina, cuja cor mostra-se amarela ou violeta clara. Com isso, há o decaimento da absorção, monitorada pelo aparelho. O resultado obtido é expresso em porcentagem de atividade antioxidante (%AA), cuja correspondência é feita segundo à quantidade de DDPH consumida pelo antioxidante (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; CALEGARI, 2018).



**Figura 20** Reação de redução do DPPH por uma espécie antioxidante. Fonte: Adaptado de ARRUDA, 2019.

É mais indicada para uso quando as amostras são solúveis em solventes orgânicos, já que o DPPH fica menos disponível para reagir quando solubilizado em água. Também existe grande influência da luz: segundo Oliveira (2015), há a diminuição de cerca de 30% da absorbância na presença de luz. Efeitos do pH e da presença de proteínas também devem ser levados em consideração (OLIVEIRA, 2015).

Por ser amplamente difundido, o método DPPH também sofreu inúmeras mudanças em seu protocolo, bem como adaptações. Vários solventes para solubilização do DPPH, bem como diferentes concentrações iniciais desse tem sido relatadas (OLIVEIRA, 2015).

Dentre as desvantagens desse protocolo, pode-se citar o fato de que o DPPH não reage com ácidos aromáticos que possuem uma única hidroxila ou com flavonoides que, em seu anel B, também não possuem um grupo –OH (PANDOLFO, 2014). Porém, é vantajoso quando se compara com o método ABTS, pois o radical está disponível comercialmente e pode ser obtido por simples diluições, sem a necessidade de ser gerado antes do experimento por reações químicas (DE OLIVEIRA; ANDOLFATTO, 2014; DE FRANCISCO *et al.*, 2018).

Uma das formas de demonstrar o resultado obtido por esse método é através do chamado  $CI_{50}$  (Concentração Inibitória Média), que corresponde a quantidade de amostra necessária para reduzir 50% do DPPH inicial (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011; FIANCO, 2014; OLIVEIRA, 2015). A avaliação final pode ser interpretada considerando que quanto maior o consumo de DPPH, maior a atividade antioxidante da amostra. Outra forma de se expressar a capacidade antioxidante de uma amostra é por meio do cálculo da porcentagem de inibição, dada segundo a fórmula abaixo (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011):

$$\% \text{ atividade antioxidante} = \frac{[(\text{absorbância do controle} - \text{absorbância da amostra}) / \text{absorbância do controle}] * 100\%}{}$$

Ainda, os resultados podem ser expressos, por alguns autores, na forma de índice de atividade antioxidante (AAI), uma escala que classifica a ação dos compostos em fraca ( $AAI < 0,50$ ), moderada ( $AAI$  entre 0,50 e 1,00), forte ( $AAI$  entre 1,00 e 2,00) e muito forte ( $AAI > 2,00$ ) (HABERMANN *et al.*, 2016).

Por fim, essa metodologia ainda pode ser realizada de forma mais simples, em placa de sílica. Nesse caso, há a aplicação da amostra na placa, seguido pelo borrifo de uma solução de DPPH em metanol. Caso haja a mudança de coloração de roxo para amarelo, considera-se que o resultado foi positivo, demonstrando potencial antioxidante da amostra analisada (LABYAD *et al.*, 2016).

A capacidade antioxidante de uma amostra pode variar de acordo com a sua origem – especialmente no caso da própolis –, concentração e método de avaliação. Abaixo, na Tabela 03, podem ser visualizados os valores obtidos do acervo de trabalhos escolhidos. Em termos gerais, as amostras de própolis apresentaram notável poder antioxidante; muitas vezes, seus valores de  $CI_{50}$  aproximaram-se ou até mesmo foram melhores do que os padrões antioxidantes escolhidos, como o ácido ascórbico, que já possui reconhecida potência nesses testes (CASTRO *et al.*, 2014; FALCÃO, 2013; JANSEN, 2015).

Quanto as substâncias químicas que podem explicar a ação antioxidante da própolis, podem ser citados os ácidos anacárdicos, cardols e cardanols (SANPA *et al.*, 2017).

**Tabela 03** Resultados do teste de eliminação dos radicais DPPH de extratos de própolis de abelha *Apis mellifera*, obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Porcentagem de Inibição (%)	Resultados
AGUIAR, 2015	97,20% (0,10 mg/mL) e 99,80% (1,00 mg/mL)	$CI_{50}$ : 24,20 $\mu$ g/mL
AL NAGGAR <i>et al.</i> , 2016	64,64 – 88,15% (25,00 $\mu$ g/mL); 81,93 – 92,10% (50,00 $\mu$ g/mL); 91,19 – 93,72% (100,00 $\mu$ g/mL)	-
ALVES, 2018	EEP: 88,37% Microcápsulas: 73,41 – 86,93%	-
ANDRADE <i>et al.</i> , 2017	-	4431,00 – 4663,80 $\mu$ g de Trolox/g
ANDRADE <i>et al.</i> , 2018	82,00 – 89,00%	22843,03- 24685,82 $\mu$ mol de Trolox/g
ARANGUENA SALAZAR, 2019	-	642,99 – 828,55 $\mu$ g de Trolox/g
ARAÚJO <i>et al.</i> , 2020	-	$CI_{50}$ : 100,18 $\mu$ g/mL
ARSLAN <i>et al.</i> , 2021	94,60% e 94,90%	-

ARRUDA, 2019	78,50 - 81,5% (na concentração de 80,00 µg/mL)	CI <sub>50</sub> : 3,10 - 51,03 µg/mL
AUGUSTO-OBARA <i>et al.</i> , 2019	-	682,80 – 781,20 µmol de Trolox/g
BAKKALOGLU; ARICI; KARASU, 2021	-	0,48 – 835,34 mg de Trolox/g
BÉJI-SRAIRI <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 20,10 – 43,00 µg/mL
BHARGAVA <i>et al.</i> , 2014	-	59,30 e 81,40 g/mL (nas concentrações de 5,00 e 10,00%)
BHUYAN <i>et al.</i> , 2021	4,85 - 75,02% (nas concentrações de 6,25 a 100,00 µg/mL)	CI <sub>50</sub> : 52,63 - >100,00 µg/mL
BONAMIGO <i>et al.</i> , 2017	94,60% (na concentração de 300,00 µg/mL)	CI <sub>50</sub> : 49,80 µg/mL
BOUFADI <i>et al.</i> , 2014	-	CI <sub>50</sub> : 19,40 - >50,00 µg/mL
CABRAL <i>et al.</i> , 2012	Tipo 06: 21,70% Tipo 12: 53,00%	-
CALEGARI, 2018	-	136,00 – 267,00 µmol de Trolox/g
CAO <i>et al.</i> , 2017	-	CI <sub>50</sub> : 47,71 µg/mL
CASTRO <i>et al.</i> , 2014	-	Aproximadamente CI <sub>50</sub> : 5,00 – 12,00 µg/mL
CAVALARO; FABRICIO; VIEIRA, 2020	-	18652,90 µmol de Trolox/g
CÉCERE <i>et al.</i> , 2021	-	CI <sub>50</sub> : 158,15 µg/mL
CEYLAN; HALIME, 2020	-	CI <sub>50</sub> : 3,94 – 26,33 mg/mL
COELHO, 2013	-	CI <sub>50</sub> : 20,00 - 110,00 µg/mL
COELHO <i>et al.</i> , 2017	-	CI <sub>50</sub> : 10,00 – 110,00 µg/mL
CORREA <i>et al.</i> , 2016	-	CI <sub>50</sub> : 7,81 e 37,01 µg/mL (algumas amostras não foram ativas)
COTTICA <i>et al.</i> , 2011	-	CI <sub>50</sub> : 47,00 - 160,00 µg/mL
CRUZ, 2011	-	50,46 mg EAG/g
DA CRUZ ALMEIDA <i>et al.</i> , 2017	EEP: 16,52 – 98,06% (nas concentrações de 2,50 – 50,00 µg/mL) Microcápsulas: 5,89 – 87,86% (nas concentrações de 2,50 – 50,00 µg/mL)	CI <sub>50</sub> EEP: 6,95 e 4,78 µg/mL CI <sub>50</sub> Microcápsulas: 8,89 – 23,36 µg/mL

DA GRAÇA MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	-	CI <sub>50</sub> : 8,00 – 1813,00 mg/mL
DĂRĂBAN <i>et al.</i> , 2019	-	CI <sub>50</sub> : 1,30 – 3,70 µL
DA SILVA <i>et al.</i> , 2013	24,00 – 52,00% (500 e 600 ppm); 62,00 – 81,00% (2000 ppm); 84,00 – 89,00% (5000 ppm)	-
DA SILVA <i>et al.</i> , 2018	-	11,68 – 275,20 µmol de Trolox/g
DE ALMEIDA, 2017	EEP: 74,01 – 96,72% Microcápsulas: 53,88 – 92,56%	-
DE FRANCISCO <i>et al.</i> , 2018	-	CI <sub>50</sub> : 913,18 µg/mL
DE LIMA <i>et al.</i> , 2019 <sup>a</sup>	-	CI <sub>50</sub> : 25,00 µg/mL
DE LIMA <i>et al.</i> , 2019 <sup>b</sup>	-	CI <sub>50</sub> : 9,35 µg/mL
DE MENDONÇA, 2014	10,91% (50,00 µg/mL); 13,33% (100,00 µg/mL); 22,10% (150,00 µg/mL); 31,82% (200,00 µg/mL); 40,46% (250,00 µg/mL)	CI <sub>50</sub> : 372,44 µg/mL
DE OLIVEIRA; ANDOLFATTO, 2014	34,65 - 57,68%	3,16 - 8,75 µmol de Trolox/g
DE SOUZA <i>et al.</i> , 2018	-	CI <sub>50</sub> : 3,74 µg/mL
DEVEQUI-NUNES <i>et al.</i> , 2018	-	CI <sub>50</sub> EEP: 89,90 – 159,74 µg/mL CI <sub>50</sub> Supercrítico: 141,81 – 371,12 µg/mL
DING <i>et al.</i> , 2021	Aproximadamente 80,00 – 95,00% (na concentração de 5,00 mg/mL)	-
DO NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2016	EEP: 98,00% Nanopartículas: 76,22 – 81,40%	-
DO NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2019	EEP: 91,07% Microcápsulas: 90,60%	-
DUCA <i>et al.</i> , 2019	84,71 – 92,57 % (10,00 mg/mL); 79,57 – 92,50% (5,00 mg/mL); 72,63 – 92,63% (3,00 mg/mL); 67,58 – 90,66% (1,50 mg/mL); 13,58 – 82,52% (0,50 mg/mL); 7,89 – 78,16% (0,30 mg/mL);	CI <sub>50</sub> : 70,00 – 932,00 µg/mL
EL MENIY <i>et al.</i> , 2021	-	CI <sub>50</sub> : 21,00 – 1308,00 µg/mL
EL SOHAIMI; MASRY, 2014	8,98 – 99,20% (nas concentrações de 5,00 a 200,00 µg/mL)	CI <sub>50</sub> : 73,49 e 81,67 µg/mL

EZZAT <i>et al.</i> , 2019	12,93 – 91,42% (nas concentrações de 10,00 – 1280,00 µg/mL)	CI <sub>50</sub> : 49,70 µg/mL
FALCÃO, 2013 (1)	-	CI <sub>50</sub> : 8,00- 93,00 µg/mL
FANGIO <i>et al.</i> , 2019	-	566,00 – 1477,00 µmol de Trolox/g
FARIAS AZEVEDO <i>et al.</i> , 2018	EEP: 79,10 – 95,70% (2,50 – 80,00 µg/mL); Nanopartículas: 58,90 – 100,00% (2,50 – 80,00 µg/mL)	-
FERREIRA, 2015	4,46 – 17,95% (15,00 µg/mL); 6,85 – 29,66% (30,00 µg/mL); 8,23 – 40,77% (45,00 µg/mL); 9,66 – 52,18% (60,00 µg/mL)	-
FERREIRA, 2017	-	Aproximadamente 120,00 – 310,00 µmol de equivalentes de ácido ascórbico/g
FERREIRA, 2019	-	CI <sub>50</sub> : 56,20 e 72,90 µg/mL
FERREIRA <i>et al.</i> , 2017	-	CI <sub>50</sub> : 56,20 e 72,90 µg/mL
FIANCO, 2014	-	CI <sub>50</sub> Própolis verde: 0,05 – 0,09 g de extrato/ g de DPPH verde) CI <sub>50</sub> Própolis vermelha: 0,08 - 0,10 g de extrato/ g de DPPH
GALEOTTI <i>et al.</i> , 2017	-	Aproximadamente 28,00 - 57,00 µg de Trolox
GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011	60,93% (na concentração de 0,10%)	505,14 mg/L ou 38,13 g de amostra/g de DPPH
GUO <i>et al.</i> , 2011	-	AAI: 0,28 – 3,29
HAMES-KOCABAS <i>et al.</i> , 2013	-	CI <sub>50</sub> : 4,95 – 37,09 µg/mL
IKEDA, 2020	-	EEP: 0,15 µmol de Trolox/mg Óleo essencial: Sem capacidade
IRIGOITI; YAMUL; NAVARRO, 2021	-	Aproximadamente 0,75 – 2,00 µg de Trolox/g
JANSEN, 2015	4,55 - 38,32% (25,00 µg/mL); 13,33 - 90,66% (125,00 µg/mL); 36,06 - 91,35% (250,00 µg/mL)	CI <sub>50</sub> : 50,35 - 108,69 µg/mL (algumas amostras não atingiram o CI <sub>50</sub> )
JIANG <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 71,19 – 432,08 µg/mL
JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014	-	CI <sub>50</sub> : 29,00 -114,40 µg/mL
KASOTE <i>et al.</i> , 2017	-	0,29 – 0,38 mmol de Trolox/mg



KUMAR <i>et al.</i> , 2011	-	CI <sub>50</sub> : 75,00 µg/mL
KUMAZAWA <i>et al.</i> , 2013	23,00 – 85,70%	-
KUMUL <i>et al.</i> , 2020	4,13 – 67,32%	-
KUNRATH <i>et al.</i> , 2017	-	CI <sub>50</sub> EEP: 89,94 g de própolis/g de DPPH CI <sub>50</sub> Extrato seco: 5,86 g de própolis/g de DPPH
KUREK-GÓRECKA <i>et al.</i> , 2012	-	CI <sub>50</sub> : 256,86 e 268,60 mg
LABYAD <i>et al.</i> , 2016	Metodologia em placa: positivo	-
LACERDA, 2012	-	4,50 – 148,10 µmol de Trolox/g
LUIS-VILLAROYA <i>et al.</i> , 2015	-	CI <sub>50</sub> : 55,00 µg /mL
MACHADO <i>et al.</i> , 2016	-	CI <sub>50</sub> EEP: 31,80 – 273,46 CI <sub>50</sub> Supercrítico: 85,34 – 373,53
MARCUSSI; GUTIERREZ- GONÇALVES, 2013	-	CI <sub>50</sub> : 14,83 - 56,29 µg/mL
MASEK <i>et al.</i> , 2019	Aproximadamente 20,00 – 85,00% (nas concentrações de 0,50 – 3,00 mg/mL)	-
MELLO; HUBINGER, 2012	Aproximadamente EEP: 52,00 – 88,00% EAP: 25,00 – 45,00%	-
MENDEZ-PFEIFFER <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 58,80 – 98,70 µg/mL
MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	Inverno: 35,76 – 92,28% Primavera: 38,16 – 91,55%	-
MOHDALY <i>et al.</i> , 2015	28,50% (5,00 µg/mL) e 85,00% (25,00 µg/mL)	-
MOLNÁR <i>et al.</i> , 2017	-	64,10 – 214,20 mg de equivalentes de ácido ascórbico/g
MONCAYO LUJÁN <i>et al.</i> , 2018	11,40 – 12,39%	-
NAIK; VAIDYA, 2011	17,10 – 81,09 (nas concentrações de 0,10 – 2,00 mg/mL)	CI <sub>50</sub> : 320,00 µg/mL
NINA <i>et al.</i> , 2015	-	CI <sub>50</sub> : 10,29 – 91,84 µg/mL (algumas amostras foram inativas)
NINA <i>et al.</i> , 2016	-	CI <sub>50</sub> : 4,54 – 58,71 µg/mL

NORI <i>et al.</i> , 2011	15,97 e 21,65% (600,00 ppm); 53,37 e 56,40% (1500,00 ppm); 84,10 e 84,94% (3000,00 ppm)	-
OLDONI <i>et al.</i> , 2015	-	31,60 – 87,50 µg de Trolox/g
OZDAL <i>et al.</i> , 2018	-	391,73 mg de Trolox/g
OZDAL <i>et al.</i> , 2019	-	13,71– 63,33 mg de Trolox/g
PAZIN <i>et al.</i> , 2017	-	CI <sub>50</sub> (absorbância óptica): 32,4 µg/mL CI <sub>50</sub> (ressonância de spin eletrônico): 9,50 µg/mL
PEIXOTO <i>et al.</i> , 2021	-	CI <sub>50</sub> : 11,80 – 13,70 µg/mL
PERMANA <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 43,29 – 863,44 µg/mL
PRASNIEWSKI, 2015	-	11,68 – 175,77 µmol de Trolox/g
QUINTINO <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 23,48 µg/mL
RAMNATH; VENKATARAMEGOWD A, 2016	-	CI <sub>50</sub> : 333,48 – 600,88 µg/mL
RIGHI <i>et al.</i> , 2011	30,62% (8,00 µg/mg); 32,75% (12,50 µg/mg); 39,12% (25,00 µg/mg);	-
RISTIVOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2018	26,49 – 65,64%	-
RISTIVOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2020	40,51 e 53,21%	-
RIVERA-YAÑEZ <i>et al.</i> , 2018	-	CI <sub>50</sub> : 15,75 µg/mL
ROCHA <i>et al.</i> , 2013	-	CI <sub>50</sub> : 33,36 e 56,71 µg/mL
RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2012	-	65,10 – 190,40 µmol de Trolox/g
RODRÍGUEZ PÉREZ <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 26,00 – 950,40 µg/mL
SALGUEIRO, 2016	-	CI <sub>50</sub> EEP: 30,65 – 56,71 µg/mL CI <sub>50</sub> EMP: 6,93 – 23,69 µg/mL CI <sub>50</sub> Soxhlet: 15,10 – 72,44 µg/mL
SALGUEIRO; CASTRO, 2016	-	CI <sub>50</sub> : 30,65 – 56,71 µg/mL
SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2020	11,50 – 72,30%	-
SANPA <i>et al.</i> , 2017	-	CI <sub>50</sub> : 19,90 – 67,20 µg/mL
SARAL <i>et al.</i> , 2019	-	CI <sub>50</sub> : 20,00 – 130,00 µg/mL
SCHMIDT <i>et al.</i> , 2014a	-	CI <sub>50</sub> : 17,13 – 83,60 µg/mL
SCHMIDT <i>et al.</i> , 2014b	-	CI <sub>50</sub> : 29,00 – 87,83 mg/L

SHAHBAZ <i>et al.</i> , 2021	EAP: 44,73% EEP: 61,26 – 73,18 % EMP: 59,01 – 70,06%	-
SHEHATA <i>et al.</i> , 2020	Aproximadamente 28,00 – 90,00% (na concentração de 1,00 mg/mL)	-
SHUBHARANI; MAHESH; YOGANANDA MURTI, 2019	-	CI <sub>50</sub> : 78,90 – 358,20 µg/mL
SILVA <i>et al.</i> , 2018	92,40% (250,00 µg/mL); 22,10% (5,00 µg/mL); DPPH em placa: positivo	CI <sub>50</sub> : 3,97 µg/mL
SIME <i>et al.</i> , 2015	48,60 – 87,80%	247,00 – 455,00 mg de equivalente de ácido ascórbico/g
SOUSA <i>et al.</i> , 2019	-	CI <sub>50</sub> : 11,46 – 77,30 µg/mL
SULAIMAN <i>et al.</i> , 2011	20,00 – 63,30% (1,00 µg/mL); 26,60 – 76,60% (10,00 µg/mL); 40,00 – 83,30% (100,00 µg/mL)	-
SUN <i>et al.</i> , 2015	-	CI <sub>50</sub> EAP: 13798,00 µg/mL CI <sub>50</sub> EEP: 633,00 – 7129,00 µg/mL
SVEČNJAK <i>et al.</i> , 2020	-	2,60 – 81,60 mg EAG/g
TIVERON, 2015	-	4,47 – 148,06 µmol de Trolox/g
TIVERON <i>et al.</i> , 2016	-	0,01 – 0,38 mg Trolox/g
TORETI, 2011	20,59 – 72,84%	1628,00 – 126164,06 µmol de Trolox/g
TOUZANI <i>et al.</i> , 2018	-	CI <sub>50</sub> : 19,00 – 1190,00 µg/mL
VARGAS-SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2019	28,70 – 69,10% (nas concentrações de 12,50 – 500,00 µg/mL)	-
VARGAS-SÁNCHEZ; TORRESCANO- URRUTIA; SÁNCHEZ ESCALANTE, 2020	83,20 - 85,10% (na concentração de 250,00 µg/mL)	-
VENEGAS <i>et al.</i> , 2016		CI <sub>50</sub> : 14,28 – 43,08 µg/mL
WALI <i>et al.</i> , 2016	-	CI <sub>50</sub> : 76,15 – 102,17 µg/mL
WANG <i>et al.</i> , 2016	-	CI <sub>50</sub> : 43,40 – 269,00 µg/mL
WIWEKOWATI <i>et al.</i> , 2017	-	CI <sub>50</sub> : 35,60 µg/mL
XAVIER <i>et al.</i> , 2017	14,80 e 44,70%	CI <sub>50</sub> : 33,10 e 78,50 µg/mL

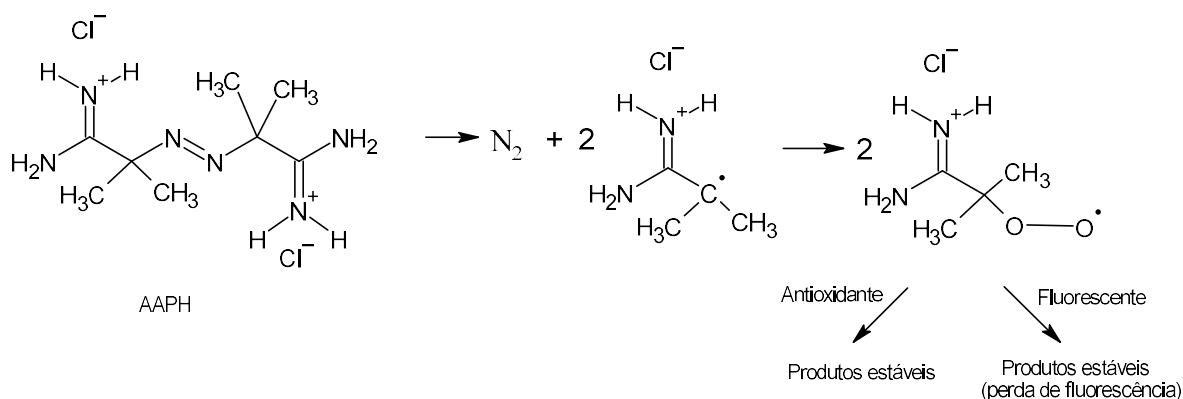
YUAN <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 34,61 e 47,28 µg/mL
YURTERI, 2015	96,00% (na concentração de 10,00 mg/mL)	CI <sub>50</sub> : 4101,00 µg/mL
ZEITOUN <i>et al.</i> , 2019	-	CI <sub>50</sub> : 122,80 µg/mL
ZHANG <i>et al.</i> , 2015	-	CI <sub>50</sub> : 32,35 µg/mL
ZHANG <i>et al.</i> , 2016	-	CI <sub>50</sub> : 19,55 – 43,85 µg/mL
ŽIŽIĆ <i>et al.</i> , 2013	-	CI <sub>50</sub> : 55,45 – 118,46 µg/mL

### 5.5.2 ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

O Índice ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), ou avaliação da atividade antioxidante por absorção do radical oxigênio, é realizado, *in vitro*, para medir a capacidade antioxidante de um composto ou seu poder em sequestrar o radical peróxido, por meio da transferência de um átomo de hidrogênio (DE MORAIS *et al.*, 2021). Tem como base a quantificação do decaimento de fluorescência (PANDOLFO, 2014), que ocorre uma vez a cada minuto, durante 35 minutos. Como essa metodologia possui valores específicos de temperatura e pH, necessita-se de um controle rigoroso de tais parâmetros (CAVALARO, 2017).

Para a obtenção dos radicais peróxido com reação com o oxigênio atmosférico, usa-se, comumente, a dicloridrato de 2,2'-Azobis (2-amidinopropano) (AAPH), sendo este um indutor da oxidação (Figura 21) (CAVALARO, 2017). O indicador de fluorescência são as proteínas B-ficoeritrina (B-PE) e R-ficoeritrina (RPE), que formam um complexo não fluorescente desnaturado em ambientes oxidativo – a primeira está gradativamente deixando de ser usada, por sua alta fotossensibilidade e resultados inconsistentes, sendo trocada pela fluoresceína (LACERDA, 2012).

Essa medida pode ser feita com leitura em espectrofotômetro – 575 nm para a B-PE e 578 nm para a RPE. Como padrão antioxidante, pode ser utilizado o Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico). Este composto é um análogo da vitamina E, solúvel em água (CAO *et al.*, 2017).



**Figura 21** Reação do radical AAPH no teste *ORAC*. Fonte: Adaptado de SALGUEIRO, 2016.

Os resultados são obtidos pela quantificação da capacidade antioxidante e protetora dos compostos, por meio da subtração do branco com as amostras e, geralmente, são expressos como “*ORAC*” (ALVES *et al.*, 2010). Uma unidade de *ORAC* obtida pelo composto testado equivale a proteção que 1  $\mu$ M de Trolox consegue ter. Como na maioria das medições espectrofotométricas, é necessário que se realize uma curva de calibração com diferentes concentrações de Trolox. Na literatura, podem ser encontradas comparações da atividade do Trolox com ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno e ácido úrico (CAO *et al.*, 2017; CAVALARO, 2017).

É importante lembrar que o teste *ORAC* é válido para sistemas biológicos, já que utiliza a medição do radical peroxil, um dos mais presentes nos organismos (SILVA, 2015). Outra vantagem é seu amplo uso na análise do potencial antioxidante de produtos naturais, como a própolis, devido a sua competência em detectar antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos (DE MORAIS *et al.*, 2021).

Dentre os trabalhos escolhidos, os resultados de CASTRO *et al.* (2014) demonstram variações entre os componentes e a capacidade antioxidante das amostras, embora todas tenham sido coletadas na mesma cidade. Isso reforça a ideia de que a própolis tem atividades e composição química extremamente variada, com alta dependência de fatores externos e da genética da colmeia (CASTRO *et al.*, 2014).

Os demais resultados do teste *ORAC* advindos dos materiais dessa revisão estão apresentados na Tabela 04.

**Tabela 04** Resultados do teste *ORAC* dos extratos de própolis de *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

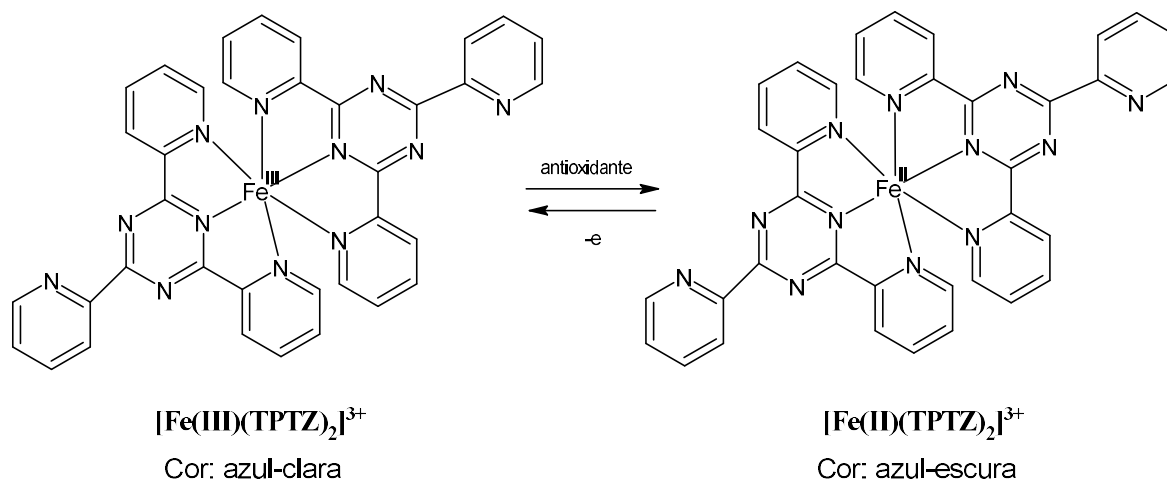
Referência	Resultado
ANDRADE <i>et al.</i> , 2017	5343,84 – 6734,87 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
ANDRADE <i>et al.</i> , 2018	4332,73 – 6261,96 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
CASTRO <i>et al.</i> , 2014	8,90 – 33,10 $\mu\text{mol}$ de equivalentes de ácido cafeico/mg
CAVALARO, 2017 (1)	2210,20 – 3524,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
CAVALARO, 2017 (2)	21,30 – 13244,50 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
CORREA <i>et al.</i> , 2016	1352,16 – 5769,72 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g (algumas amostras não foram ativas)
DA GRAÇA MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	1106,42 – 2012,15 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g (alguns não atingiram o $\text{CI}_{50}$ )
DE MORAIS <i>et al.</i> , 2021	4339,61 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
LACERDA, 2012	0,18 - 1,25 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
PANDOLFO, 2014	150,00 – 4520,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2012	475,00 – 2211,90 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
SILVA <i>et al.</i> , 2011	1800,00 – 9000,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
SUN <i>et al.</i> , 2015	EAP: 138,50 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g EEP: 918,00 – 27595,40 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
TIVERON, 2015	500,00 – 1950,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
TIVERON <i>et al.</i> , 2016	500,00 – 1950,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
VARGAS TAPIA, 2018	Aproximadamente 50,00 – 267,48 $\mu\text{mol}$ de Trolox/mL
ZHANG <i>et al.</i> , 2015	9250,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
ZHANG <i>et al.</i> , 2016	5600,00 – 9250,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g

### 5.5.3 FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Esse teste colorimétrico, com mecanismo *SET*, chamado de ensaio antioxidante de determinação do poder de redução do íon ferro, possui como vantagem a possibilidade de uso de amostras complexas, fluidos biológicos e substâncias puras em soluções aquosas (RUFINO *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2014), além de ser relativamente simples, com fácil padronização. Porém, deve-se lembrar que esse teste demanda tempo para a completa reação com alguns compostos antioxidantes (GUO *et al.*, 2003).

Essa metodologia tem como base a mudança de cor que ocorre quando o íon férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ), presente no complexo 2,4,6-tripiridil-S-triazina (TPTZ), é reduzido, em meio ácido,

para o íon ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), adquirindo uma coloração azul-escuro que pode ser percebida por espectrofotômetro em 565 nm (Figura 22) (OLDONI *et al.*, 2015; DE MORAIS *et al.*, 2021). A intensidade da amostra está diretamente relacionada com o poder antioxidante medido (URREA-VICTORIA *et al.*, 2016).



**Figura 22** Reação química demonstrando a formação de  $\text{Fe}^{2+}$  (forma ferrosa) devido à redução de  $\text{Fe}^{3+}$  (forma férrica) presente no complexo com TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina).

Fonte: Adaptado de RUFINO *et al.*, 2006.

Com relação as desvantagens do método, pode-se citar que o íon  $\text{Fe}^{3+}$  possui baixo potencial redox (abaixo a 0,70 V), ou seja, pode ser reduzido por uma grande gama de substâncias, inclusive aquelas que não necessariamente apresentam atividade antioxidante. Por conta desse quadro, os resultados podem ser superestimados. Ainda, deve-se lembrar que nem todas as substâncias conseguem reagir com o ferro no tempo geralmente proposto do ensaio (10 minutos), como o ácido cafeico e o ácido ferúlico (SALGUEIRO, 2016).

Sabe-se que os compostos fenólicos são a classe de compostos com a maior atividade biológica da própolis, principalmente no quesito da atividade antioxidante. No que tange a metodologia *FRAP*, o mesmo se aplica. Essas moléculas têm grande poder de redução dos íons de ferro, devido a sua capacidade de doar elétrons. Sabe-se que as amostras que possuem maiores quantidades desses compostos são aquelas que obtém os melhores resultados nessa

metodologia (JANSEN, 2015).

Os resultados dos trabalhos lidos estão apresentados na Tabela 05. Novamente, na maioria dos casos, as amostras de própolis tiveram desempenho parecido ou melhor que os antioxidantes puros comerciais.

**Tabela 05** Resultados do teste *FRAP* dos extratos de própolis de abelha *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Resultado
ABUBAKER; FAGEER, 2017	3790,00 e 36530,00 $\mu\text{mol}$ de equivalentes de citamina C/mL
ALVES, 2018	EEP: 815,75 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g Microcápsulas: 34,14 – 139,31 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
ANDRADE <i>et al.</i> , 2017	471,51 – 633,18 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
ANDRADE <i>et al.</i> , 2018	144,87 – 396,09 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
ARSLAN <i>et al.</i> , 2021	3813,20 e 4017,70 $\mu\text{mol}$ de $\text{FeSO}_4/\text{g}$
BÉJI-SRAIRI <i>et al.</i> , 2020	$\text{CI}_{50}$ : 375,00 – 780,00 $\mu\text{g}/\text{mL}$
BHARGAVA <i>et al.</i> , 2014	1,97 e 3,75 mg/mL (nas concentrações de 5,00 e 10,00%)
CALEGARI, 2018	1571,00 – 1830,00 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
CALEGARI <i>et al.</i> , 2017	2013: 89,70 – 286,70 $\mu\text{mol}$ $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$ 2015: 638,1 – 1041,0 $\mu\text{mol}$ $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
CASTRO <i>et al.</i> , 2014	1700,00 – 3200,00 $\mu\text{mol}$ de equivalente de ácido cafeico/g
CAVALARO; FABRICIO; VIEIRA, 2020	36231,00 $\mu\text{mol}$ de $\text{FeSO}_4/\text{g}$
COTTICA <i>et al.</i> , 2011	528,00 - 1365,00 $\mu\text{mol}$ $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
DĂRĂBAN <i>et al.</i> , 2019	51,96 – 93,79 $\mu\text{mol}$ de Trolox/mL
DA SILVA <i>et al.</i> , 2018	66,74 – 1164,00 $\mu\text{mol}$ de $\text{FeSO}_4/\text{g}$
DE FRANCISCO <i>et al.</i> , 2018	1536,40 $\mu\text{mol}$ de $\text{FeSO}_4/\text{g}$
DE MORAIS <i>et al.</i> , 2021	1472,86 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
DE OLIVEIRA; ANDOLFATTO, 2014	60,67 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
DING <i>et al.</i> , 2021	126,00 – 290,34 $\mu\text{mol}$ de $\text{FeSO}_4/\text{g}$
ERTÜRK <i>et al.</i> , 2016	361956,00 mmol <i>FRAP</i>
FERREIRA, 2017	Aproximadamente 200,00 – 1200,00 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
GOKDUMAN, 2019	247,64 mg de Trolox/g
IKEDA, 2020	EEP: 1386,14 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{mg}$ Óleo essencial: 183,98 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{mg}$
JANSEN, 2015	750,00 – 4670,00 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$



KASOTE <i>et al.</i> , 2017	130000,00 – 7340000,0 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
KIZILTAS; ERKAN, 2020	1,54– 5,98 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
KUNRATH <i>et al.</i> , 2017	EEP: 50,98 $\mu\text{mol}$ de $\text{FeSO}_4/\text{g}$ Extrato seco: 543,40 $\mu\text{mol}$ de $\text{FeSO}_4/\text{g}$
MASEK <i>et al.</i> , 2019	Aproximadamente 0,75 – 2,50 (diferença de absorvância)
MELLO; HUBINGER, 2012	EEP: 219,04 – 2078,57 $\mu\text{mol}$ de $\text{FeSO}_4$ EAP: 180,95 – 1308,09 $\mu\text{mol}$ de $\text{FeSO}_4$
NINA <i>et al.</i> , 2015	667,43 – 1754,03 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g (algumas amostras foram inativas)
NINA <i>et al.</i> , 2016	246260,00 – 905950,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/kg (algumas amostras foram inativas)
OLDONI <i>et al.</i> , 2015	259,30 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
OZDAL <i>et al.</i> , 2018	156,59 mg de Trolox/g
PRASNIEWSKI, 2015	66,74 – 837,17 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2012	112,10 – 321,30 $\mu\text{mol}$ de equivalentes de ácido ascórbico/g
SALGUEIRO, 2016	EEP: 2607,90 – 6088,50 mmol de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$ EMP: 4137,90 – 14147,20 mmol de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$ Soxhlet: 2606,20 – 4907,90 mmol de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
SALGUEIRO; CASTRO, 2016	2607,90 – 6088,50 mmol de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2020	1,00 – 7,20 mg de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
SARAL <i>et al.</i> , 2019	166,91- 1600,25 $\mu\text{mol}$ de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{g}$
SHUBHARANI; MAHESH; YOGANANDA MURTI, 2019	$\text{CI}_{50}$ : 2,86 – 5,71 $\mu\text{g}/\text{mL}$
SOUSA <i>et al.</i> , 2019	2075,50 – 3472,00 mmol de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
SUN <i>et al.</i> , 2015	EAP: 20,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/mg EEP: 16,00 – 233,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/mg
SVEČNJAK <i>et al.</i> , 2020	100,00 – 800,00 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$
TOUZANI <i>et al.</i> , 2018	$\text{CI}_{50}$ : 39,00 – 1080,00 $\mu\text{g}/\text{mL}$
VARGAS TAPIA, 2018	Aproximadamente 18,00 - 49,30 $\mu\text{mol}$ de $\text{Fe}^{2+}/\text{mL}$
XAVIER <i>et al.</i> , 2017	42,00 e 157,60 mg de Trolox/g

#### 5.5.4 Reducing Power (RP)

De forma semelhante ao método *FRAP*, o teste chamado de “*reducing power*”, ou “poder redutor” (*RP*), também explora a capacidade de redução dos íons de ferro, por meio da doação de elétrons (FALCÃO, 2013). Na presença de um antioxidante, há a formação do ferrocianeto de potássio ( $\text{Fe}^{2+}$ ), por meio da reação com o ferricianeto de potássio ( $\text{Fe}^{3+}$ ). O ferrocianeto de potássio reage, então, como o cloreto férrico, dando origem a um complexo

que pode ser mensurado em 700 nm (SINGHAL *et al.*, 2011). O aumento na absorvância reflete uma melhor capacidade antioxidante da amostra (MOUHOUBI-TAFININE; OUCHEMOUKH; TAMENDJARI, 2016).

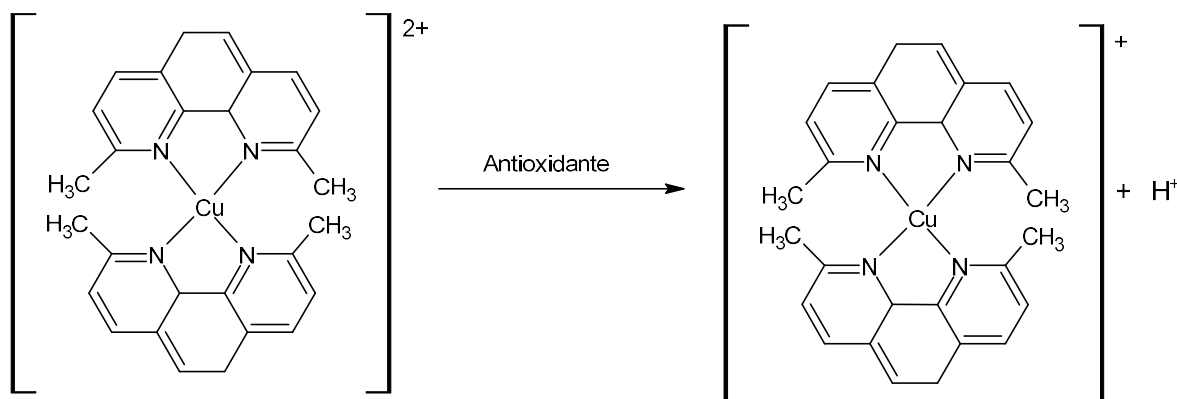
Os resultados dessa metodologia encontrados nos trabalhos da presente revisão bibliográfica estão apresentado abaixo, na Tabela 06.

**Tabela 06** Resultados do teste *RP* dos extratos de própolis de abelha *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

<b>Referência</b>	<b>Resultado</b>
CAO <i>et al.</i> , 2017	1,73 mmol de Trolox/g
COELHO, 2013	0,07 – 0,99 g de equivalentes de ácido cafeico: galangina: pinocembrina (1:1:1)/g
COELHO <i>et al.</i> , 2017	0,09 – 0,68 g de equivalentes de ácido cafeico: galangina: pinocembrina (1:1:1)/g
DA GRAÇA MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	Aproximadamente, houve um acréscimo de absorvância (0,25 – 2,60) na concentração de 1,00 mg/mL
DING <i>et al.</i> , 2021	Aproximadamente 0,12 – 0,35 (na concentração de 5,00 mg/mL)
EL MENIY <i>et al.</i> , 2021	CI <sub>50</sub> : 42,00 – 1512,00 µg/mL
FALCÃO, 2013 (1)	110,00 – 757,00 mg de equivalentes de ácido cafeico: galangina: pinocembrina (1:1:1)//g
GUO <i>et al.</i> , 2011	1,20 – 3,47 (valor de K: aumento da absorvância)
MOUHOUBI-TAFININE; OUCHEMOUKH; TAMENDJARI, 2016	Aproximadamente 1,00 – 25,00 mg EAG/g
ROCHA <i>et al.</i> , 2013	CI <sub>50</sub> : 270,00 e 282,00 µg/mL
SHEHATA <i>et al.</i> , 2020	Aproximadamente 0,20 – 0,90 (na concentração de 1,00 mg/mL)
VARGAS-SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2019	0,07 – 0,56% (nas concentrações de 12,50 – 500,00 µg/mL)
VARGAS-SÁNCHEZ; TORRESCANO-URRUTIA; SÁNCHEZ ESCALANTE, 2020	>50,00% de inibição (nas concentrações de 125,00 e 250,00 µg/mL)
WALI <i>et al.</i> , 2016	Absorvância aproximada de 1,00 a 1,80 (na concentração de 150,00 µg/mL)
ZHANG <i>et al.</i> , 2015	2,08 mmol de Trolox/g
ZHANG <i>et al.</i> , 2016	1,53 – 2,70 mmol de Trolox/g

### 5.5.5 CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity)

O método *CUPRAC* baseia-se na mensuração das capacidades redutoras das substâncias, por meio da redução dos íons cobre (ÖZKÖK *et al.*, 2021). O reagente oxidante utilizado é o cátion de cobre (2+) bis-neocuproína, um agente de transferência eletrônica. Na presença de substâncias antioxidante, em pH 7 e temperatura ambiente, há a formação do cromóforo reduzido *CUPRAC*, o cátion de cobre (1+) bis-neocuproína, que forma um quelato de cor alaranjado, detectado em 450 nm (Figura 23). Os prótons liberados para o meio durante a reação são capturados pelo tampão, mantendo o pH constante (ÖZYÜREK *et al.*, 2011).



**Figura 23** Reação de redução do reagente de cobre (2+) na presença de um antioxidante, formando o quelato de cobre (1+), de coloração alaranjada. Fonte: Adaptado de ÖZYÜREK *et al.*, 2011.

É considerado barato, rápido (30 minutos), simples e versátil, capaz de analisar uma grande gama de compostos, tais como polifenóis, flavonoides, vitaminas e antioxidantes sintéticos. Os resultados geralmente são expressos em equivalentes de Trolox (ÖZYÜREK *et al.*, 2011).

Quando comparado a outros métodos, observa-se que o *CUPRAC* apresenta maiores valores de capacidade antioxidante, devido, principalmente, a diferença de solubilidade entre os solventes usados nos testes. Além disso, quando comparado ao *FRAP*, o cobre possui uma cinética de reação mais rápida. Com relação ao ABTS e DPPH, o *CUPRAC* conta com reagentes mais acessíveis e estáveis (OZDAL *et al.*, 2018).

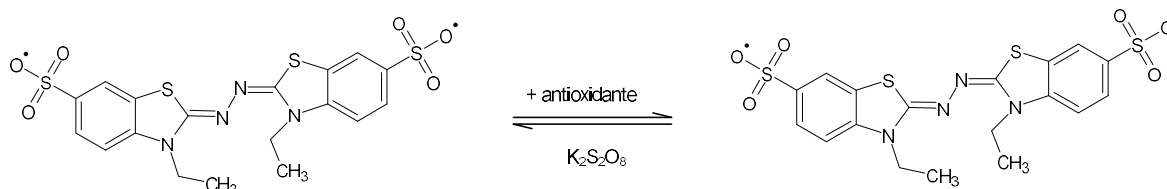
Os valores obtidos para o teste *CUPRAC* dos trabalhos dessa revisão estão expostos na Tabela 07.

**Tabela 07** Resultados do teste *CUPRAC* dos extratos de própolis de *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Resultado
BHUYAN <i>et al.</i> , 2021	Porcentagem de inibição: 21,91 - 95,60% (nas concentrações de 4,19 - 268,30 µg/mL) CI50: 4,84 - 14,21 µg/mL
DĀRĀBAN <i>et al.</i> , 2019	123,78 – 357,21 µmol de Trolox/mL
MASEK <i>et al.</i> , 2019	Aproximadamente 0,40 -1,8 (diferença de absorbância)
OZDAL <i>et al.</i> , 2018	1184,94 mg de Trolox/g
OZDAL <i>et al.</i> , 2019	24,62 – 85,80 mg de Trolox/g
ÖZKÖK <i>et al.</i> , 2021	95,35 – 710,43 mg de Trolox/g
SARAL <i>et al.</i> , 2019	270,00 – 400,00 µmol de Trolox/g

### 5.5.6 ABTS ([ácido 2,29-azinobis- (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)])

Esse ensaio é baseado em uma reação de descoloração, na qual um radical em uma forma estável é produzido antes do encontro com um antioxidante. Ocorre quando há a geração de  $ABTS^+$ , um cromóforo azul esverdeado, após reação entre ABTS e persulfato de potássio (rota química) ou quando utilizada peroxidase de rábano silvestre (rota enzimática) (KUMAZAWA *et al.*, 2013; PANDOLFO, 2014). Seu mecanismo de ação envolve tanto a classificação *SET* quanto *HAT* (CALEGARI, 2018) (Figura 24).



**Figura 24** Estabilização do radical  $ABTS^+$  por um antioxidante. Fonte: Adaptado de SALGUEIRO, 2016.

Quando na presença de um antioxidante, o cátion volta progressivamente ao seu estado basal, e esse decaimento de coloração pode ser lido por espectrofotômetro em comprimento de ondas de 413 - 873 nm, a depender do solvente usado (KUMAZAWA *et al.*, 2013; PANDOLFO, 2014). Alguns autores afirmam que o comprimento de onda ideal é 734 nm, já que consegue minimizar interferências advindas da turbidez da amostra e de outros compostos absorventes. A absorbância obtida pelo aparelho é proporcional ao radical ABTS que ainda encontra-se em solução (CALEGARI, 2018).

Geralmente, o padrão utilizado é o Trolox, e os resultados expressos como um valor de *TEAC* (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) (WALKER; EVERETE, 2009). Tem como vantagem resultados confiáveis tanto para antioxidantes lipossolúveis quanto hidrossolúveis (PANDOLFO, 2014), bem como para substâncias puras, misturas e extratos vegetais (CAVALARO, 2017). Além disso, mantém sua estabilidade em uma ampla faixa de pH (NENADIS *et al.*, 2004), é rápido, barato e sensível (PANDOLFO, 2014; OLDONI *et al.*, 2015).

Um fato interessante é que o radical do teste ABTS é mais reativo do que aquele encontrado no teste DPPH. Por isso, os seus valores costumam ser mais representativos quanto ao real poder antioxidante da amostra (KASOTE *et al.*, 2017; CALEGARI, 2018). Isso acontece devido ao fato de que o ABTS consegue solubilizar-se em ambos os meios, aquosos e oleosos, atingindo uma maior quantidade de alvos do que o DPPH, que geralmente está presente em meios orgânicos (TIVERON *et al.*, 2016). Isso também deixa o método ABTS menos seletivo, já que essa molécula tem a capacidade de reagir com qualquer estrutura aromática que possua hidroxilas. O DPPH, entretanto, possui limitações de reação com flavonoides com ausência do grupo –OH em seu anel B ou de ácidos fenólicos monohidroxilados no anel aromático de sua estrutura (SALGUEIRO, 2016).

Os dados dos materiais da revisão bibliográfica para esse teste estão apresentados na Tabela 08. Corroborando com as outras metodologias, novamente a própolis de *A. mellifera* mostrou boa atividade antioxidante. Como exemplo, pode-se citar o artigo produzido por SALAS *et al.* (2016), onde ele encontra valor semelhante aos padrões puros.

**Tabela 08** Resultados do teste ABTS dos extratos de própolis de abelha *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Porcentagem de Atividade (%)	Resultado
ANDRADE <i>et al.</i> , 2017	-	1868,45 – 2913,55 µmol de Trolox/g
ANDRADE <i>et al.</i> , 2018	-	10623,48 – 15106,07 µmol de Trolox/g
AUGUSTO-OBARA <i>et al.</i> , 2019	-	8052,00 – 8773,60 µmol de Trolox/g
BÉJI-SRAIRI <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 244,00 – 616,00 µg/mL
BHUYAN <i>et al.</i> , 2021	4,52 - 98,74% (nas concentrações de 0,78 a 50,00 µg/mL)	CI <sub>50</sub> : 5,60 – 7,77 µg/mL
BOULECHFAR <i>et al.</i> , 2019	Óleo essencial: 27,51% EMP: 92,03%	Óleo essencial: CI <sub>50</sub> : 516,05 µg/mL EMP: 10,08 µg/mL
CALEGARI <i>et al.</i> , 2017	-	2013: 25,50 – 109,20 µmol de Trolox/g 2015: 298,10 – 439,20 µmol de Trolox/g
CALEGARI, 2018	-	1130,00 µmol de Trolox/g
CAO <i>et al.</i> , 2017	-	CI <sub>50</sub> : 110,28 µg/mL
CAVALARO, 2017 (2)	-	408,66 – 13412,14 µmol de Trolox/g
CRUZ, 2011	-	46,29 mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/g
DA CUNHA, 2017	-	253,56 µmol de Trolox/mL
DA GRAÇA MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	-	CI <sub>50</sub> : 9,00 – 1009,00 µg/mL
DĂRĂBAN <i>et al.</i> , 2019	-	CI <sub>50</sub> : 0,59 – 0,83 µL
DA SILVA <i>et al.</i> , 2018	-	19,03 – 1077,00 µmol de Trolox/g
DE FRANCISCO <i>et al.</i> , 2018	-	CI <sub>50</sub> : 2286,16 µg/mL
DE LIMA <i>et al.</i> , 2019a	-	CI <sub>50</sub> : 30,10 µg/mL
DEL RÍO DEL ROSAL <i>et al.</i> , 2017	-	16,66 – 63,45 µmol de Trolox/g
DE MORAIS <i>et al.</i> , 2021	-	2700,00- 35508,8 µmol de Trolox/g

DE OLIVEIRA; ANDOLFATTO, 2014	-	52,08 µmol de Trolox/g
DING <i>et al.</i> , 2021	-	36,76 – 106,73 µmol de Trolox/g
EL MENIYY <i>et al.</i> , 2021	-	CI <sub>50</sub> : 26,00 – 1529,00 µg/mL
FANGIO <i>et al.</i> , 2019	-	843,00 – 1683,00 µmol de Trolox/g
FERREIRA, 2017	-	Aproximadamente 10,00 -100,00 µmol de equivalentes de ácido ascórbico/g
GARGOURI <i>et al.</i> , 2019	-	109,76 – 252,90 µmol de Trolox/g
IKEDA, 2020	-	Aproximadamente EEP: 3,12 µmol de Trolox/mg Óleo essencial: 0,40 µmol de Trolox/mg
JANSEN, 2015	-	2,45 - 18,00 µg de Trolox/mL
KASOTE <i>et al.</i> , 2017	-	680,00 – 429,00 µmol de Trolox/mg
KUMAZAWA <i>et al.</i> , 2013	23,00 – 71,20%	-
KUMUL <i>et al.</i> , 2020	-	6310,00 – 64290,00 µmol de Trolox/g
KUREK-GÓRECKA <i>et al.</i> , 2012	-	139380,00- 153520,00 µmol de Trolox
LACERDA, 2012	-	1,01 – 384,60 mg de Trolox/g
MACHADO <i>et al.</i> , 2016	EEP: 77,90 – 98,50% Supercrítico: 49,60 – 87,60%	-
MASEK <i>et al.</i> , 2019	Aproximadamente 35,00 – 89,00% (nas concentrações de 0,50 – 3,00 mg/mL)	-
MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	Inverno: 30,18 – 78,90% Primavera: 24,77 – 64,76%	-
MOHDALY <i>et al.</i> , 2015	94,34% (na concentração de 25,00 µg/mL)	-
NAIK; VAIDYA, 2011	-	420,00 – 5150,00 µmol de Trolox (nas concentrações de 0,10 a 2,00 mg/mL) CI <sub>50</sub> : 180 µg/mL
NINA <i>et al.</i> , 2015	-	870,64 – 2328,66 µmol de Trolox/g
NINA <i>et al.</i> , 2016	-	225,43 – 2666,56 µmol de Trolox/g
OLDONI <i>et al.</i> , 2015	-	95,88 µmol de Trolox/g
OSÉS <i>et al.</i> , 2016	-	1184,66 -1400,86 µmol de Trolox/g
OSÉS <i>et al.</i> , 2020	-	280,00 – 470,00 µmol de Trolox/g

OZDAL <i>et al.</i> , 2018	-	422,82 mg de Trolox/g
PANDOLFO, 2014	-	120,00 – 2400,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
PRASNIEWSKI, 2015	-	22,49 – 354,40 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
RAMNATH; VENKATARAMEGOWDA, 2016	-	CI <sub>50</sub> : 298,86 – 860,32 $\mu\text{g/mL}$
IRIGOITI; YAMUL; NAVARRO, 2021	-	Aproximadamente 1,00 - 3,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2012	-	739,70 – 1918,40 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
SALAS <i>et al.</i> , 2016	-	CI <sub>50</sub> : 14,00 $\mu\text{g/mL}$
SALAS <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 29,50 – 33,70 $\mu\text{g/mL}$
SALAS <i>et al.</i> , 2018	-	CI <sub>50</sub> : 23,00 – 30,00 $\mu\text{g/mL}$
SALGUEIRO, 2016	-	EEP: 848600,00 – 1576200,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g EMP: 946300,00 – 1163300,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g Soxhlet: 747800,00 – 2139000,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
SALGUEIRO; CASTRO, 2016	-	848600,00 – 1576200,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
SOUSA <i>et al.</i> , 2019	-	677600,00 -1068200,00 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
SUN <i>et al.</i> , 2015	-	CI <sub>50</sub> EAP: 10310,00 $\mu\text{g/mL}$ CI <sub>50</sub> EEP: 520,00 – 5520,00 $\mu\text{g/mL}$
SHEHATA <i>et al.</i> , 2020	Aproximadamente 29,00 - 90,00% (na concentração de 1,00 mg/mL)	-
SHUBHARANI; MAHESH; YOGANANDA MURTI, 2019	-	Aproximadamente CI <sub>50</sub> : 15,10 – 550,00 $\mu\text{g/mL}$
TIVERON, 2015	-	1,01 – 384,62 mg de Trolox/g
TIVERON <i>et al.</i> , 2016	-	0,29 – 1,05 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g
TOUZANI <i>et al.</i> , 2018	-	CI <sub>50</sub> : 21,00 – 983,00 $\mu\text{g/mL}$
QUINTINO <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 32,18 $\mu\text{g/mL}$
YURTERI, 2015	-	0,06 – 2,97 $\mu\text{mol}$ de Trolox/g (nas concentrações de 10,00 – 50,00 $\mu\text{g/mL}$
ZHANG <i>et al.</i> , 2015	-	CI <sub>50</sub> : 40,50 $\mu\text{g/mL}$



### 5.5.7 $\beta$ -Caroteno/Ácido Linoleico

Esse sistema é baseado na capacidade de proteção de uma amostra contra a degradação peroxidativa por radicais livres do substrato lipídico ácido linoleico. Quando há a oxidação do ácido linoleico, segue-se a descoloração do caroteno – o amarelo intenso torna-se amarelo claro -, que pode ser percebido por meios espectrofotométricos (470 nm). Isso ocorre por que o ácido linoleico dá origem ao radical peroxil, após reagir com o hidrogênio insaturado da molécula do  $\beta$ -caroteno. Na presença de um antioxidante, essa descoloração é menor, pois ele tem a capacidade de reagir com o radicais livres (LACERDA, 2012; SALGUEIRO, 2016).

É amplamente usado, por ser simples e sensível, inclusive para analisar extrato de plantas (JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014; SALGUEIRO, 2016), visto que o  $\beta$ -caroteno é muito susceptível aos radicais livres do meio (DE-MELO *et al.*, 2014), além de não envolver o uso de temperaturas mais altas, evitando a degradação de compostos termossensíveis. Dentre as limitações do método, pode-se citar a interação do  $\beta$ -caroteno com o oxigênio do meio (SALGUEIRO, 2016).

A análise da peroxidação lipídica é muito popular, devido as alterações sensoriais e nutricionais que pode causar nos alimentos, bem como no dano que pode ocasionar em tecidos e células. Os compostos responsáveis por essas ações são gerados por hidroperóxidos resultantes de processos oxidativos, iniciados por diversos fatores, tais como oxigênio, altas temperaturas e íons metálicos (CAVALARO, 2017; YONAR *et al.*, 2017).

Segundo ISLA *et al.* (2009), um dos compostos típicos da própolis que pode estar envolvido no desempenho desse material vegetal no presente teste é a galangina, de forma sinérgica com os outros componentes (ISLA *et al.*, 2009).

Geralmente, os resultados são expressos por meio de CI<sub>50</sub> (JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014) ou são comparados com o padrão Trolox (SALGUEIRO, 2016). Os outros resultados dos materiais da revisão estão listados abaixo, na Tabela 09.

**Tabela 09** Resultados do teste do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico dos extratos de própolis de abelha *Apis*

*mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Porcentagem de Inibição (%)	Resultado
BÉJI-SRAIRI <i>et al.</i> , 2020	-	CI <sub>50</sub> : 1300,00 – 2000,00 µg/mL
BOULECHFAR <i>et al.</i> , 2019	Óleo essencial: 48,51 % EMP: 91,98% (EMP)	Óleo essencial - CI <sub>50</sub> : 198,01 µg/mL EMP - CI <sub>50</sub> : 43,46 µg/mL
CEYLAN; HALIME, 2020	39,21 – 91,10%	-
DE-MELO <i>et al.</i> , 2014	51,33 – 92,70 %	-
DE SOUZA <i>et al.</i> , 2018	75,50%	-
FERREIRA, 2015	16,86 – 54,25% (40,00 µg/mL); 21,92 – 66,30% (80,00 µg/mL); 15,92 – 75,09% (120,00 µg/mL)	-
FERREIRA, 2019	-	CI <sub>50</sub> : 101,10 e 106,40 µg/mL
FERREIRA <i>et al.</i> , 2017	-	CI <sub>50</sub> : 101,10 e 106,40 µg/mL
JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014	-	CI <sub>50</sub> : 14,20 – 55,50 µg/mL
KUREK-GÓRECKA <i>et al.</i> , 2012	69,64 e 70,30%	-
RIGHI <i>et al.</i> , 2011	84,50% (1,00 mg/mL); 85,30% (1,50 mg/mL); 85,70% (2,00 mg/mL)	-
SALAS <i>et al.</i> , 2016	-	CI <sub>50</sub> : 26,00 e 29,00 µg/mL
SHAHBAZ <i>et al.</i> , 2021	EAP: 39,21% EEP: 49,94 – 60,59% EMP: 48,70 – 57,01%	-

### 5.5.8 Outras formas de análise de peroxidação lipídica

Existem, ainda, outros métodos capazes de avaliar a peroxidação lipídica. Essa diversidade deve-se a grande importância que as reações de degradação dos lipídeos têm no âmbito da saúde humana e, principalmente, na indústria alimentícia (KUNRATH; SAVOLDI, 2014).

Alguns antioxidantes tem um importante papel protetivo em emulsões, devido as suas propriedades lipofílicas. Dentre eles, a buteína é um composto reconhecido pelo seu papel na inibição das reações de peroxidação lipídica, além de ser inibidora da enzima xantina

oxidase (RIGHI *et al.*, 2011). O antioxidante sintético BHT é o melhor na ação contra oxidação de gorduras animais (KUNRATH; SAVOLDI, 2014).

A peroxidação lipídica pode iniciar-se por meio da auto-oxidação, fotoxidação, termoxidação ou oxidação enzimática. Tudo começa quando um oxigênio ativado interage com ácidos graxos insaturados, com a saída de um átomo de hidrogênio presente em um carbono adjacente as ligações duplas. Na fase de propagação, há a formação de radicais livres, como hidroperóxidos. Estes, então, degradam-se, dando origem a novos radicais e continuando a cadeia de oxidação. Isso continua até que se esgotem o oxigênio ou os lipídeos insaturados. Por fim, há a produção de álcoois, cetonas e aldeídos voláteis, que dão aos alimentos as características organolépticas de ranço. Dentre esses aldeídos, um dos mais famosos é o malondialdeído (MDA), formado por ácidos graxos poli-insaturados com ligações duplas diversas (KUNRATH; SAVOLDI, 2014; TIVERON, 2015; CAVALARO, 2017).

Um dos testes populares usados para a avaliação da peroxidação lipídica é o TBARS (*Thiobarbituric acid reactive substances*), ou “substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico”, que mede, majoritariamente o MDA. Porém, outras substâncias voláteis produzidas nos processos de oxidação lipídica também podem ser avaliadas por essa metodologia (KUNRATH; SAVOLDI, 2014). Esse método baseia-se na reação entre uma molécula de MDA e duas de ácido tiobarbitúrico, em meio ácido, sob altas temperaturas. Há a geração de um complexo cromogênico vermelho, que é detectado por espectrofotômetro, em 532 - 553 nm (OAKES; VAN DER KRAAK, 2003).

É necessário ter especial cuidado ao se realizar esse teste, pois o MDA, produto proveniente exclusivamente de ácidos graxos, não está presente em todas as reações de oxidação lipídica. Além disso, outros produtos de peroxidação reagem com o ácido tiobarbitúrico, tornando-o não específico e sofrendo interferências de açúcares, amins, proteínas e pigmentos da bile. Já que essa situação pode gerar uma superestimação dos resultados, indica-se a realização de outros métodos de análise (SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999; OAKES; VAN DER KRAAK, 2003; KUNRATH; SAVOLDI, 2014).

Os resultados podem ser expressos em unidades TBA: peso, em mg, de MDA por kg de amostra (SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999); ou ainda, em Índice Antioxidante (IA)

– uma porcentagem calculada segundo a seguinte fórmula:  $IA (\%) = 1 - (\text{Abs amostra}/\text{Abs controle}) \times 100$ , no qual “Abs” refere-se a absorbância obtida (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Outra metodologia usada para se estudar a peroxidação lipídica dá-se pelo método Rancimat. Esse teste baseia-se na diferença de condutividade elétrica da água destilada, após a formação de moléculas voláteis produzidas pelas reações de peroxidação lipídicas, nas condições aceleradas do método, como altas temperaturas (110 - 130°C) e presença de corrente de ar rica em oxigênio (DE CARVALHO, 2011; MOHDALY *et al.*, 2015). Geralmente, a estabilidade oxidativa do meio é avaliada durante um período de tempo, sob condições padronizadas (LACERDA, 2012). Em alguns casos, os resultados podem ser expressos em “fator de proteção”, no qual valores altoa, acima de 1, indicam inibição da peroxidação lipídica (GRAIKOU *et al.*, 2016).

A metodologia do ferro tiocianato (FTC) baseia-se na quantificação de peróxidos produzidos nas etapas iniciais da peroxidação lipídica. Essas substâncias reagem no meio, formando íons férricos. Estes, por sua vez, unem-se com o tiocianato de amônio e produzem o ferro tiocianato, de coloração vermelha, que pode ser detectada por aparelhos (SILVA *et al.*, 2018). Ainda no quesito de peroxidação lipídica, a oxidação do *LDL* (*Low Densit Lipoprotein*) pode ser avaliada. Sabe-se, atualmente, que esse processo é um dos primeiros passos para se desenvolver algumas doenças, como a aterosclerose (SILVA *et al.*, 2011).

Dentre as diversas substâncias que compõem a complexa própolis, os compostos fenólicos são vistos como os responsáveis por sua atividade biológica. No que se refere a inibição da peroxidação lipídica, o mesmo mostra-se verdadeiro. Os grupos lipofílicos dos compostos fenólicos interagem com as moléculas da membrana plasmática, impedindo seu dano. Já os flavonoides também possuem importante papel nesse quesito, com destaque para a quercetina e rutina, que se mostraram mais eficientes em inibir a formação de MDA do que hesperetina e naringenina. Isso se deve a sua grande capacidade de interação com os fosfolipídios da membrana e possibilidade de doação dos átomos de hidrogênio, presentes em seus grupos hidroxilas (VARGAS-SÁNCHEZ *et al.*, 2019).

Os resultados encontrados nos trabalhos da presente revisão bibliográfica, para as metodologias de avaliação lipídica, estão expostos abaixo, na Tabela 10.

**Tabela 10** Resultados das outras metodologias para avaliar peroxidação lipídica dos extratos de própolis de abelha *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Teste	Resultado
BOUFADI <i>et al.</i> , 2014	TBARS	Porcentagem de inibição da peroxidação (aproximadamente): 25,00 - 82,00% (100,00 µg/mL)
BOUFADI <i>et al.</i> , 2014	LDL	Porcentagem de inibição: 77,00 – 99,00% (20,00 µg/mL)
CAVALARO <i>et al.</i> , 2017 (2)	FTC	Ao final do processo de peroxidação lipídica forçada, a emulsão de própolis manteve os níveis de hidroperóxido nos mesmos valores dos controles com antioxidantes sintéticos
CEYLAN; HALIME, 2020	FTC	Porcentagem de inibição: 34,74 – 51,77%
DA GRAÇA MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	TBARS	CI <sub>50</sub> : 14,00 – 699,00 µg/mL
GRAIKOU <i>et al.</i> , 2016	Rancimat	Atividades variaram de >1, =1 e <1 (fator de proteção)
JEONG <i>et al.</i> , 2012	TBARS	CI <sub>50</sub> : 35,65 µg/mL
MELLO; HUBINGER, 2012	FTC	A diminuição da absorbância indica forte atividade antioxidante dos extratos de própolis
MOHDALY <i>et al.</i> , 2015	Rancimat	Fator de estabilização: 13,7
OSÉS <i>et al.</i> , 2020	TBARS	0,099 – 0,117 mmol de equivalente de ácido úrico/g
PERMANA <i>et al.</i> , 2020	FTC	CI <sub>50</sub> : 65,32 – 1503,00 µg/mL
SHEHATA <i>et al.</i> , 2020	TBARS	Aproximadamente 25,00 – 90,00% (na concentração de 1,00 mg/mL)
SILVA <i>et al.</i> , 2011	LDL	As amostras de própolis com maiores concentrações de polifenóis conseguiram inibir a oxidação lipídica
SILVA <i>et al.</i> , 2018	FTC	>86,00% (5,00 – 100,00 µg/mL)
TIVERON, 2015	Peroxidação lipídica por índice de peróxidos	Os extratos de própolis (100,00 mg/kg) obtiveram boa proteção contra oxidação do óleo de soja (1,70 – 4,90

		mmol de O <sub>2</sub> /kg) quando comparado ao controle (5,52 mmol de O <sub>2</sub> /kg).
XAVIER <i>et al.</i> , 2017	Peroxidação lipídica	60,00 – 90,00% de proteção as membranas lipídicas

### 5.5.9 Testes em alimentos

A análise da rancidez ajuda na garantia da qualidade e segurança dos produtos alimentícios, bem como na escolha dos produtos pelo cliente, diminuindo o desperdício (KUNRATH; SAVOLDI, 2014).

ALVES (2018) estudou a inserção de microcápsulas de extrato etanólico de própolis (2 g) em bolos. A atividade antioxidante do alimento pronto foi testada pelo método DPPH, com resultados que variaram de 10,32 - 11,71% de inibição. Tais valores foram maiores do que os encontrados nos bolos com adição do extrato líquido (5,26%), demonstrando que a encapsulação protegeu os compostos bioativos da própolis da temperatura do forno. Além disso, a pesquisa usando painel sensorial mostrou que a encapsulação da própolis fez com que os parâmetros organolépticos do bolo não se diferenciassem significativamente do bolo controle, o qual não apresentava a adição de extratos (ALVES, 2018).

Alguns trabalhos que compõem o acervo dessa revisão avaliaram a proteção do extrato de própolis em salames. Isso se deve por que esses produtos cárneos possuem uma grande quantidade de gordura, que é responsável por muitas das suas características agradáveis, tais como suculência e flavor. A fácil rancidez dessas substâncias produz substâncias voláteis que comprometem as características organolépticas e nutricionais do produto. As reações que levam a rancidez podem ocorrer por duas vias: hidrolítica e oxidativa (KUNRATH; SAVOLDI, 2014).

A rancidez hidrolítica conta com a ação das lipases, promovendo a formação de ácidos graxos livres. Ela pode ser impulsionada pela presença de luz ou altas temperaturas. Já a rancidez oxidativa destrói moléculas de uma série de compostos, como triglicerídeos insaturados, vitaminas e ácidos graxos essenciais. Os antioxidantes procuram impedir a ocorrência do início dessas reações, pois sabe-se que, nesses casos, tais moléculas não conseguem impedir facilmente a evolução dos processos oxidativo (KUNRATH; SAVOLDI, 2014).

KUNRATH; SAVOLDI (2014) e KUNRATH *et al.* (2017) estudaram como a adição de extratos etanólicos de própolis, atomizados por *spray dryer*, influenciam a peroxidação lipídica de salames do tipo italiano armazenados durante 35 dias. Os resultados do teste TBARS mostraram que a presença do extrato (0,01% e 0,05%) diminuíram a quantidade de malondialdeído presente no salame (0,46 e 0,22 mg de MDA/kg) quando comparado ao que não recebeu tratamento (0,51 mg de MDA/kg). Ainda, a análise em painel sensorial demonstrou que os salames que receberam a própolis não diferiram significativamente nos parâmetros sensoriais em relação ao salame controle (KUNRATH; SAVOLDI, 2014; KUNRATH *et al.*, 2017).

VARGAS-SÁNCHEZ *et al.* (2019) optaram pelo estudo da atividade antioxidante da própolis em extratos de bifes de vaca e porco. As amostras que receberam o extrato de própolis tiveram diminuição de 88,70% da produção de MDA, pelo método TBARS, quando comparado ao grupo controle. Além disso, esse produto natural conseguiu diminuir a oxidação de proteínas da amostra de carne (VARGAS-SÁNCHEZ *et al.*, 2019).

#### **5.5.10 Técnicas eletroquímicas: Voltametria**

O poder redutor de uma substância pode ser caracterizado pelo seu potencial de oxidação, sendo ambos inversamente proporcionais. Uma das formas de avaliar o poder redutor das substâncias antioxidantes é por meio de técnicas de eletroquímicas (SOUSA *et al.*, 2014). Tais metodologias mostram-se úteis não somente para se obter informações detalhadas sobre o potencial antioxidante, mas também permitem observar a quantidade de elétrons envolvida no processo, mecanismos de reação, reversibilidade do processo, constantes de equilíbrio, dentre outros. As técnicas eletroquímicas mais populares são a voltametria de pulso diferencial, que possui grande resolução e acurácia, e a voltametria de cíclica (REIS *et al.*, 2009; MASEK *et al.*, 2019).

A voltametria baseia-se na medição e correlação de parâmetros eletroquímicos diversos, como a corrente elétrica e potencial de oxidação, quantificados através de eletrodos em meios ricos em eletrólitos. O registro da relação curva corrente-potencial é realizado quando ocorre a eletrólise das espécies no eletrodo de trabalho, que pode agir como um doador ou acceptor de elétrons. Ainda, há um eletrodo de referência, com potencial fixo, além de outro eletrodo auxiliar (COELHO, 2013).

Por meio da técnica de voltametria cíclica, o processo oxidativo de uma substância é caracterizado por meio da geração de uma diferença de potencial entre os eletrodos da célula eletroquímica (trabalho e referência). Então, analisa-se o potencial de pico anódico ( $E_p$ ) e a magnitude de intensidade de corrente ( $I_p$ ). O  $E_p$  pode ser associado as informações de energia de transferência eletrônica, fornecendo dados do potencial antioxidante de uma substância. Já o parâmetro  $I_p$  também prevê uma estimativa da capacidade antioxidante, relacionando-se com a carga elétrica potencialmente transferida (REIS *et al.*, 2009; DE OLIVEIRA, 2015). Resumidamente, as espécies que possuem menor poder de oxidação funcionam como melhores antioxidantes e a intensidade da corrente é diretamente proporcional a quantidade dessas moléculas presentes no meio (COELHO, 2013).

A técnica de pulso diferencial tem como base a medição da corrente imediatamente após a liberação de um pulso, bem como ao final dele. Utiliza um eletrodo sólido, o que diminui problemas de adsorção e aumenta a sensibilidade do teste (COELHO, 2013).

Os resultados são visualizados no formato de um gráfico, chamado de voltamograma, que demonstram alguns parâmetros essenciais, como o potencial e a corrente de picos anódicos e catódicos (REIS *et al.*, 2009). Outra forma de se expressar os resultados é na forma de *TEAP* (*Total Electrochemical Antioxidant Power*). Esse valor corresponde ao somatório da densidade de corrente de cada valor do processo eletroquímico, obtido no pico máximo (COELHO, 2013). Por fim, pode-se avaliar a área do gráfico do voltamograma, obtendo, assim, uma relação com a concentração de espécies que se oxidam no meio (DE OLIVEIRA, 2015).

Pode-se citar como vantagem dessa metodologia o fato de poderem ser utilizadas na análise de substâncias isoladas ou de extratos complexos, bem como são sensíveis, seletivas e reprodutíveis, mesmo para amostras provenientes de matrizes biológicas. Ainda, permitem a análise das moléculas antioxidantes sem que seja necessário o uso de reagentes adicionais, sendo processos rápidos e simples. Porém, é importante ressaltar que, concomitantemente aos processos eletroquímicos, também podem ocorrer outras reações químicas. Por isso, nem sempre a correlação dos parâmetros dessa técnica é perfeitamente correta (REIS *et al.*, 2009; FALCÃO, 2013).



Os valores obtidos para as técnicas voltamétricas da presente revisão bibliográfica estão apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11** Resultados do teste de voltametria de extratos de própolis de abelha *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Resultado
COELHO, 2013	0,06 – 0,49 (poder antioxidante eletroquímico – 0,40 V) ou 0,06 -0,60 mg de ácido p-cumárico/mL
COELHO <i>et al.</i> , 2017	0,06 – 0,49 (poder antioxidante eletroquímico – 0,40 V) ou 0,06 -0,60 mg de ácido p-cumárico/mL
DE OLIVEIRA, 2015	19,00 - 54,00 mmol de equivalentes de ácido gálico (Ipa)
FALCÃO, 2013 (4)	0,14 - 1,14 V ou 9,00 - 73,00 TEAP
MASEK <i>et al.</i> , 2019	1,12 - 1,39 V

### 5.5.11 Quelação de metais

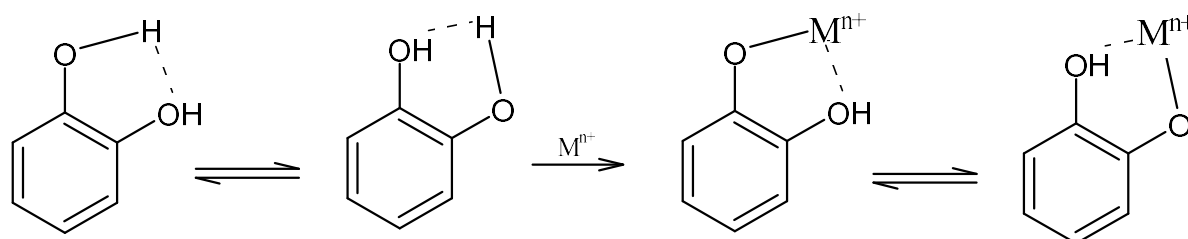
O papel dos metais de transição no estresse oxidativo já está bem estabelecido. Dentre eles, podem ser citados o cobalto, vanádio, arsênio, níquel e crômio. Ainda, destacam-se o ferro e o cobre, capazes de promover a produção de radicais hidroxilas através da reação de Fenton. Nela, há a interação os íons metálicos reduzidos com o peróxido de hidrogênio, originando os radicais livres e íons metálicos oxidados, segundo a reação abaixo (KOURY; DONANGELO, 2003; JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014):



Os produtos dessa reação são capazes de degradar as membranas plasmáticas celulares, através do ataque oxidativo aos abundantes ácidos graxos poli-insaturados ali abundantemente presentes (KOURY; DONANGELO, 2003). Também, os metais podem ser doadores de elétrons ou agirem como catalisadores de reações químicas (JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014).

As substâncias capazes de quelar esses íons e, assim, impedir o dano oxidativo a moléculas biológicas são classificados como antioxidantes secundários (Figura 25). Ao fazê-los menos disponíveis no meio, há a diminuição do seu potencial oxidativo, estabilizando-os, e reduzindo a probabilidade de interagirem com alvos moleculares (JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014).

A própolis possui compostos capazes de ajudar nesse quadro descrito, por meio da quelação de metais no meio. Como exemplo, podem ser citados a apigenina, naringenina e a diosmina (MIGUEL *et al.*, 2014). Outras substâncias, como a rutina e a catequina, foram descritas como importantes quelantes de zinco e cobre, por meio de medidas eletroquímicas (REIS *et al.*, 2009).



**Figura 25** Processo esquemático do mecanismo de quelação de metais. Fonte: Adaptado de SALGUEIRO, 2016.

Entretanto, nem todos os metais agem de forma maléfica no que se refere ao estresse oxidativo. O zinco, por exemplo, tem papel essencial como molécula antioxidante indireta, por diversos mecanismos. Dentre eles, pode-se citar a modulação de enzimas antioxidantes, proteção de grupos sulfidrilas em proteínas, além de aumentar a produção de metalotioneína. Ainda, é o cofator enzimático da catalase, uma importante enzima antioxidante dos sistemas orgânicos (REIS *et al.*, 2009). Outros exemplos de metais benéficos para o status oxidativo do corpo são o selênio, um componente da enzima glutathiona peroxidase, e o manganês (FADAKA *et al.*, 2019).

O ferro é conhecido como um indutor direto e indireto da peroxidação lipídica, devido a sua alta reatividade (ABUBAKER; FAGEER, 2017). O teste usado para medir a capacidade de quelação do ferro por uma molécula tem como base a formação de um complexo entre o reagente ferrozina e o  $\text{Fe}^{2+}$ , culminando no aparecimento de uma cor rosada no meio. Quando há a presença de substâncias quelantes na amostra, o ferro não fica

mais disponível para reagir com a ferrozina, provocando, então, o desaparecimento da coloração (WALI *et al.*, 2016).

Devido a sua grande importância nos quadros de estresse oxidativo e danos a estruturas celulares, o ferro é um dos mais estudados pelos pesquisadores. Nessa revisão, todos os trabalhos avaliaram o poder das amostras de própolis em sequestrar o íon de ferro. Os resultados estão demonstrados abaixo, na Tabela 12.

**Tabela 12** Resultados do teste de quelação de ferro dos extratos de própolis de abelha *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Resultado
ABUBAKER; FAGEER, 2017	8,73 - 43,25% (nas concentrações de 125,00 – 1000,00 µg/ml)
JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014	CI <sub>50</sub> : 324,90 – 1840,40 µg/mL
MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	Inverno: 43,92 – 82,35% Primavera: 41,11 - 71,34%
WALI <i>et al.</i> , 2016	CI <sub>50</sub> : 74,94 – 136,88 µg/mL

### 5.5.12 Atividade enzimática

O organismo tem diversas formas de proteção contra os radicais livres produzidos diariamente pelo metabolismo e pelas fontes externas. Uma das primeiras linhas de defesa antioxidante é a metaloenzima superóxido dismutase (SOD), cuja função é a catálise da transformação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio ou oxigênio. A catalase (CAT), por sua vez, está presente nos peroxissomos celulares, e é responsável por quebrar duas moléculas de peróxido de hidrogênio em oxigênio molecular e água, em uma reação de dismutação (YONAR *et al.*, 2012; MARQUES, 2015).

A glutathione redutase consegue eliminar uma série de compostos danosos, como oxigênio singlete, radicais hidroxila e vários outros eletrófilos. Já a glutathione peroxidase consegue converter hidroperóxidos e peróxido de hidrogênio a água (FADAKA *et al.*, 2019).

As enzimas UDP-glicuronosiltransferases são responsáveis por detoxicar o organismo nas fases II do metabolismo, após as enzimas de fase I realizarem a produção de

compostos reativos, por meio da transferência de ácido glucurônico para moléculas acceptoras (KALTHOFF; STRASSBURG, 2019).

A mieloperoxidase (MPO) tem um papel contrário as enzimas citadas até o momento. Ela é encontrada nos grânulos de neutrófilos, sendo responsável por catalisar a reação entre íons cloreto e peróxido de hidrogênio, com produção de ácido hipocloroso. Esse ácido tem papel crucial na destruição de patógenos invasores. Porém, quando encontrada nos tecidos extracelulares, ou em casos de exacerbação da resposta imune e doenças crônicas, com a chamada “rede de neutrófilos”, pode haver excesso de radicais livres no meio, causando danos a biomoléculas variadas (BOUFADI *et al.*, 2014).

A xantina oxidase tem como função produzir ácido úrico, tendo como substratos a lipoxantina e a xantina. Após esse processo, há a reoxidação da enzima, momento no qual o oxigênio molecular age como um acceptor de elétrons, culminando com a produção de peróxido de hidrogênio e radicais superóxido (EL-GUENDOOUZ *et al.*, 2016).

Destaca-se, ainda, a enzima lipoxigenase (LOX), essencial no surgimento de processos inflamatórios, além de ter papel em fenômenos oxidativos, com a catalisação de reações de oxidação de ácidos insaturados. É responsável por produzir leucotrienos inflamatórios a partir do ácido araquidônico. Além disso, ela promove a conversão do ácido linoleico a ácido linoleico 13-hidroperóxido, que pode ser quantificado por meios espectrofotométricos em 234 nm (DA GRAÇA MIGUEL *et al.*, 2014; EL-GUENDOOUZ *et al.*, 2016).

Devido à grande importância que tais biomoléculas catalíticas desenvolvem na proteção contra o estresse oxidativo, existem trabalhos que se empenham em verificar a atividade dessas enzimas. Em alguns casos, é interessante que as enzimas estejam superativas ou mais expressas, o que ajuda o organismo a lidar com os radicais livres, como a SOD e a catalase. E, em outros, a inibição enzimática é mais vantajosa, caso a enzima seja produtora de espécies oxidantes ou tenham papel em alguma das vias de dano celular e tecidual, como a MPO.

Corroborando com os outros métodos, os compostos da própolis geralmente associados com a atividade antioxidante com mecanismo modulador de enzimas são os

composto fenólicos e flavonoides, como a galangina. A LOX é inibida por moléculas de CAPE, ácido cafeico, quercetina e naringenina (EL-GUENDOZ *et al.*, 2016).

Os resultados da atividade enzimática após adição do extrato de própolis está listado abaixo, na Tabela 13. Geralmente, eles foram expressos como CI<sub>50</sub>, no caso das enzimas danosas ao organismo.

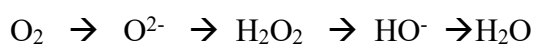
**Tabela 13** Resultados do teste de avaliação da modulação enzimática de extratos de própolis de abelha *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Teste	Resultado
BOUFADI <i>et al.</i> , 2014	Inibição da MPO	CI <sub>50</sub> : 10,30 – 48,70 µg/mL
DA GRAÇA MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	Inibição da LOX	CI <sub>50</sub> : 149,00 – 2521,00 µg/mL
EL-GUENDOZ <i>et al.</i> , 2016	Inibição da LOX	CI <sub>50</sub> : 20,00 – 653,00 µg/mL
EL-GUENDOZ <i>et al.</i> , 2016	Inibição da xantina oxidase	CI <sub>50</sub> : 8,00 – 3116,00 µg/mL
SALAS <i>et al.</i> , 2016	Inibição da COX-2	CI <sub>50</sub> : 100,00 e 106,00 µg/mL
SALAS <i>et al.</i> , 2016	Inibição da LOX	CI <sub>50</sub> : 63,90 e 94,90 µg/mL
SALAS <i>et al.</i> , 2018	Inibição da LOX	CI <sub>50</sub> : 90,00 – 100,00 µg/mL
SHUBHARANI; MAHESH; YOGANANDA MURTI, 2019	Atividade da SOD	CI <sub>50</sub> : 21,65 – 25,91 µg/mL
SILVA <i>et al.</i> , 2011	<i>eNOS</i> (óxido nítrico sintetase endotelial)	As amostras de própolis aumentaram a expressão da NO sintetase endotelial
SILVA <i>et al.</i> , 2011	<i>NADPH</i> oxidase	As amostras de própolis diminuíram a atividade da <i>NADPH</i> oxidase

### 5.5.13 Sequestro de EROs e ERNs

Algumas metodologias quantificam a diminuição de radicais livres no meio reacional. Dentre os compostos oxidantes mais famosos, tem-se o radical hidroxila (<sup>•</sup>OH), superóxido (O<sup>2•-</sup>) e hidroperoxila (ROO<sup>•</sup>) (GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011). O radical superóxido consegue atravessar diversas barreiras celulares, sendo transportado por canais aniônicos, e, fisiologicamente, pensa-se que é responsável por

mediar sinais nervosos, não sendo muito reativo. O mesmo se aplica ao peróxido de hidrogênio, produzido por enzimas chamadas de peroxidases, a partir do metabolismo do oxigênio. É muito solúvel e inerte, com baixo poder oxidante; porém este tem a capacidade de produzir novos radicais livres, ao penetrar nas células e reagir com íons de ferro ou cobre. Por fim, o mais reativo oxidante é o radical hidroxila. Ele consegue ter rápida formação e disseminação pelas reações no organismo (PANDOLFO, 2014; RAMNATH; VENKATARAMEGOWDA, 2016; WALI *et al.*, 2016; ABUBAKER; FAGEER, 2017; DE FRANCISCO *et al.*, 2018).



Ainda, outras moléculas mostram-se importantes no contexto de ataque oxidativo: oxigênio singlete, radical ácido hipocloroso – muito ligado a doenças inflamatórias crônicas e peroxidação lipídica-, e as moléculas proveniente do nitrogênio, como o óxido nítrico (NO), um radical gasoso lipossolúvel e capaz de atravessar membranas biológicas, e o peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), um vasodilatador potente (PANDOLFO, 2014; DE FRANCISCO *et al.*, 2018). As espécies reativas de nitrogênio (ERNs) estão associadas a uma série de doenças, a citar: aterosclerose, câncer, diabetes e desordens neurodegenerativas (DE FRANCISCO *et al.*, 2018).

Com relação ao dano no sistema nervoso central, nota-se papel do óxido nítrico, ao reagir com o radical superóxido, produzindo peroxinitritos. Esse produto é prejudicial aos neurônios, levando a apoptose celular (DA SILVEIRA *et al.*, 2016). Alguns compostos antioxidantes presentes nos extratos de própolis competem com o oxigênio, impedindo a sua reação com o óxido nítrico, e, conseqüentemente, a formação de nitritos e ERNs tóxicos (RAMNATH; VENKATARAMEGOWDA, 2016).

Por fim, com menos informações disponíveis, há o radical metil, gerado por moléculas carbônicas, e o radical tiil (R-S), provenientes do enxofre. Enquanto o primeiro é conhecido por causar danos às fitas de *DNA*, não se sabe bem as funções do segundo (PANDOLFO, 2014).

Existem diversas metodologias para se observar a diminuição de radicais livres do meio reacional. Algumas delas utilizam-se da reação de Fenton (DING *et al.*, 2021), enquanto outros observam a diminuição da absorvância (WALI *et al.*, 2016). O ensaio de

medição do ânion superóxido usa o último mecanismo, ao analisar a diminuição da absorvância após reação entre o azul de nitrotetrazólio e os radicais livres, gerando sal de formazan, que pode ser percebido em 560 nm (MIGUEL *et al.*, 2014; PAZIN *et al.*, 2017).

Os resultados desses testes estão apresentados na Tabela 14.

**Tabela 14** Resultados do teste de avaliação de sequestro de EROs e ERNs dos extratos de própolis de *Apis mellifera* obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Radical	Resultado
ABUBAKER; FAGEER, 2017	Peróxido de hidrogênio	60,37 - 92,68% (nas concentrações de 125,00 a 1000,00 µg/mL)
DA GRAÇA MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	Radical hidroxil	CI <sub>50</sub> : 59,00 – 1389,00 µg/mL
DE FRANCISCO <i>et al.</i> , 2018	Óxido nítrico	CI <sub>50</sub> : 1,61 µg/mL
DE FRANCISCO <i>et al.</i> , 2018	Superóxido	CI <sub>50</sub> : 226,778 µg/mL
DE FRANCISCO <i>et al.</i> , 2018	Peróxido de hidrogênio	CI <sub>50</sub> : 520,29 µg/mL
DE FRANCISCO <i>et al.</i> , 2018	Ácido hipocloroso	CI <sub>50</sub> : 13,25 µg/mL
DE FRANCISCO <i>et al.</i> , 2018	Radical peroxil	CI <sub>50</sub> : Não encontrado
DING <i>et al.</i> , 2021	Radical hidroxil	Aproximadamente 60,00 – 77,00% (na concentração de 5,00 mg/mL)
DING <i>et al.</i> , 2021	Superóxido	Aproximadamente 52,00 – 63,00% (na concentração de 5,00 mg/mL)
FANGIO <i>et al.</i> , 2019	Radical hidroxil	0,34 nmol de radicais hidroxil sequestrados (na concentração de 0,04 ng de extrato de própolis)
GARGOURI <i>et al.</i> , 2019	Radical hidroxil	0,052 – 0,068 mmol de equivalente de ácido úrico/g
MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	Superóxido	Inverno: 46,02 – 85,72 Primavera: 48,18 – 84,79%
NAIK; VAIDYA, 2011	Óxido nítrico	5,15 – 53,18% (nas concentrações de 0,10 – 2,00 mg/mL) CI <sub>50</sub> : 1650,0 µg/mL
NAIK; VAIDYA, 2011	Superóxido	0,834 – 1,457 nmol de Trolox/g

OSÉS <i>et al.</i> , 2016	Radical hidroxil	0,0012 mmol de equivalente de ácido úrico/mL
OSÉS <i>et al.</i> , 2020	Superóxido	CI <sub>50</sub> : 200,00 – 440,00 µg/mL
PAZIN <i>et al.</i> , 2017	Superóxido	CI <sub>50</sub> : 34,00 µg/mL
TIVERON, 2015	Superóxido	CI <sub>50</sub> : 0,29 – 2,91 µg/mL
TIVERON, 2015	Ácido hipocloroso	CI <sub>50</sub> : 0,03 – 1,45 µg/mL
RAMNATH; VENKATARAMEGOWDA, 2016	Óxido nítrico	CI <sub>50</sub> : 536,19 – 757,75 µg/mL
RAMNATH; VENKATARAMEGOWDA, 2016	Peróxido de hidrogênio	CI <sub>50</sub> : 325,30 – 765,75 µg/mL
SALAS <i>et al.</i> , 2020	Radical hidroxil	CI <sub>50</sub> : 16,50 – 37,00 µg/mL
SALAS <i>et al.</i> , 2020	Superóxido	CI <sub>50</sub> : 115,00 – 290,00 µg/mL
SALAS <i>et al.</i> , 2020	Peróxido de hidrogênio	CI <sub>50</sub> : 39,00 – 92,00 µg/mL
SALAS <i>et al.</i> , 2020	Óxido nítrico	CI <sub>50</sub> : 50,00 – 104,50 µg/mL
SCHMIDT <i>et al.</i> , 2014b	Atividade antiradical – Peróxido de hidrogênio	0,48 – 2,94 mg de Trolox/L (na concentração de 2,9.10 <sup>-5</sup> g/mL)
TIVERON <i>et al.</i> , 2016	Superóxido	CI <sub>50</sub> : 0,29 – 2,91 µg/mL
TIVERON <i>et al.</i> , 2016	Ácido hipocloroso	CI <sub>50</sub> : 0,03 – 1,45 µg/mL
WALI <i>et al.</i> , 2016	Peróxido de hidrogênio	CI <sub>50</sub> : 109,93 – 145,42 µg/mL
YUAN <i>et al.</i> , 2020	Radical hidroxil	CI <sub>50</sub> : 54,42 – 59,61 µg/mL
ZHANG <i>et al.</i> , 2015	Superóxido	1,52 mmol de Trolox/g
ZHANG <i>et al.</i> , 2016	Superóxido	0,96 – 1,65 mmol de Trolox/g

#### 5.5.14 Testes em cultura celular

Alguns autores dos materiais dessa revisão bibliográfica optaram por utilizar ensaios celulares, dentre outros, a fim de medir a atividade antioxidante dos extratos em meios um pouco mais complexos, que assemelham-se mais a realidade. Sabe-se que os radicais livres podem ser gerados por reações que ocorrem tanto no meio intracelular quanto no extracelular. As células mais reconhecidas como produtoras de tais espécies oxidantes são



as que compõem o sistema imune (neutrófilos, monócitos, eosinófilos e macrófagos), além das células endoteliais (ARANGUENA SALAZAR, 2019).

Uma das metodologias usadas para mensurar o potencial antioxidante do extrato etanólico de própolis, utilizado por CAO *et al.* (2017), foi a avaliação da produção de EROs por macrófagos, *in vitro*, quando estimulados por peróxido de hidrogênio (reação de Fenton). A própolis conseguiu inibir a produção de EROs de maneira concentração-dependente, além de aumentar a sobrevivência dessas células (CAO *et al.*, 2017). Testes semelhantes foram usados por SUN *et al.* (2015), que avaliaram a capacidade antioxidante dos extratos de própolis em células HepG2 (atividade antioxidante celular). O  $CI_{50}$  encontrado variou de 171,00 - 25738,00  $\mu\text{g/mL}$ , de acordo com a proporção de água e etanol no solvente (SUN *et al.*, 2015). GOKDUMAN (2019) também trabalhou com células HepG2, além de Hep3B. O tratamento com o extrato etanólico de própolis (10,00 – 100,00  $\mu\text{g/mL}$ ) reduziu significativamente a produção de EROs intracelular (GOKDUMAN, 2019).

O trabalho proposto por BONAMIGO *et al.* (2017) trouxe o teste de dosagem de MDA, um marcador de dano oxidativo dos lipídios da membrana. Para isso, foram usados eritrócitos, indutores de oxidação e marcadores da molécula desejada. Posteriormente, a absorbância da amostra de sobrenadantes foi lida a 532 nm. Como resultado, percebeu-se que o controle do ácido ascórbico e a amostra de própolis reduziram os níveis de MDA em 65,70% e 38,40%, respectivamente, na maior concentração avaliada. O mesmo trabalho ainda trouxe a avaliação da atividade antioxidante por meio da inibição da hemólise oxidativa: o extrato etanólico obteve uma inibição, na concentração de 125,00  $\mu\text{g/mL}$ , de 24,60% (BONAMIGO *et al.*, 2017).

VALENTE *et al.* (2011) também avaliaram a proteção do extrato metanólico da própolis portuguesa na proteção das hemácias contra processos de lise oxidativa. Como esperado, o tratamento com a própolis diminuiu os níveis de produção de MDA (71,00 a 78,00%), devido à redução de reações de peroxidação lipídica nas membranas celulares, quando comparado com os grupos controles ( $CI_{50}$ : 8,10 e 9,70  $\mu\text{g/mL}$ ). Além disso, a própolis protegeu as células contra a hemólise causada pelos danos as membranas, já que os radicais livres promovem distúrbios nas estruturas de superfície e canais iônicos ( $CI_{50}$ : 6,30 e 10,70  $\mu\text{g/mL}$ ) (VALENTE *et al.*, 2011).

Trabalhando com células de câncer de mama humanas (MCF-7), ARSLAN *et al.* (2021) mensuraram a peroxidação lipídica (TBARS) quando expostas a mitomicina C. O tratamento com extratos de própolis (32,50; 65,00; 125,00; 250,00 e 500,00 µg/mL) diminuiu os níveis de peroxidação lipídica (0,03 – 0,16 nmol/mL), quando comparado a grupos controles sem tratamento (0,40 nmol/mL) (ARSLAN *et al.*, 2021).

SALAS *et al.* (2016) estudaram os efeitos do pré-tratamento com extrato etanólico de própolis em macrófagos estimulados com lipopolissacarídeo (LPS), uma potente molécula pró-inflamatória. Notou-se que o grupo tratado teve diminuição nos níveis de produção de NO (CI<sub>50</sub>: 8,40 e 9,40 µg/mL) e da sua enzima induzível (*iNOS*) (CI<sub>50</sub>: 27,03 e 30,96 µg/mL) (SALAS *et al.*, 2016). A mesma estratégia foi usada por BHUYAN *et al.* (2021). O tratamento com a própolis também diminuiu a produção de NO pelos macrófagos, com CI<sub>50</sub> variando entre 2,06 - 22,5 µg/mL (BHUYAN *et al.*, 2021).

SALGUEIRO (2016) testou a atividade protetiva do extrato etanólico de própolis contra danos a membrana plasmática de leveduras causados por peróxido de hidrogênio. Os resultados do método TBARS verificaram que a presença do tratamento com a própolis reduziu os danos oxidativos nas membranas (SALGUEIRO, 2016).

Também trabalhando com leveduras, CRUZ (2011) utilizou-se desses microrganismos para estudar o efeito protetivo da própolis contra danos oxidativos ao *DNA* e sua viabilidade frente ao estresse oxidativo promovido por peróxido de hidrogênio. A exposição ao pré-tratamento e co-tratamento com os extratos de própolis promoveram uma melhora da viabilidade celular das leveduras, quando comparado aos controles exclusivos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Porém, o pós-tratamento com a própolis não conseguiu reverter o dano oxidativo já ocorrido. Ainda, nas concentrações de 25,00 - 300,00 µg/mL, esse produto natural conseguiu proteger o *DNA* do dano oxidativo. Não obstante, teve efeitos, também, pró-oxidativos e genotóxicos, em maiores concentrações (CRUZ, 2011).

MENDEZ-PFEIFFER *et al.* (2020) estudaram o efeito do tratamento com o extrato metanólico de própolis em células M12.C3. F6, quando expostas a ambiente de estresse oxidativo causado por aplicação de peróxido de hidrogênio. O tratamento com a própolis (25,00 e 50,00 µg/mL) aumentou a sobrevivência celular, bem como diminuiu os danos a

membrana plasmática, por meio da inibição do excesso de produção de EROs intracelular (MENDEZ-PFEIFFER *et al.*, 2020).

JEONG *et al.* (2012) analisaram o efeito protetivo do extrato aquoso de própolis na sobrevivência de células do sistema nervoso central após indução de estresse oxidativo por peróxido de hidrogênio. O pré-tratamento com a própolis, em 25,00 µg/mL, teve um bom efeito protetivo, similar ao ácido ascórbico (200,00 µmol/L), aumentando a sobrevivência celular quando comparado ao controle de estresse. Ainda, foi estudado a proteção contra o dano a membrana de células PC12, usando como marcador da lise celular a enzima lactato desidrogenase. Na concentração de 100 µg/mL, o extrato conseguiu diminuir de 257,00% (controle) para 145,00% a atividade da enzima, demonstrando proteção ao extravasamento celular (JEONG *et al.*, 2012).

ZEITOUN *et al.* (2019) estudaram os efeitos do extrato de própolis em macrófagos (RAW 264.7) expostos a LPS, com relação a produção de NO, e a expressão de enzimas inflamatórias, como a COX-2 e *iNOs*. O tratamento com a própolis (1,00; 5,00; 10,00; 15,00; 30,00; 40,00; 50,00; e 60,00 µg/mL) demonstrou a inibição de ambas as enzimas, de forma dose dependente, obtendo inibição quase completa na concentração de 60,00 µg/mL. Os níveis de produção de NO também decaíram, quando comparados com os grupos controle (ZEITOUN *et al.*, 2019).

Trabalhando com células de câncer de colo humano (HCT-116), ŽIŽIĆ *et al.* (2013) avaliaram a produção intracelular do radical superóxido e de nitrito. Na presença de extratos de própolis (10,00; 50,00; 100,00 e 500,00 µg/mL), houve diminuição do nível de ambas as moléculas 24 e 72 horas após o início dos testes (ŽIŽIĆ *et al.*, 2013).

AL NAGGAR *et al.* (2016) seguiram por um caminho diferente, ao avaliar a transcrição de Nrf2 (fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2), um fator de transcrição que é ativado em casos de estresse celular. Nessas situações, ele migra para o núcleo e liga-se a promotores, culminando na transcrição de genes de resposta ao estresse oxidativo. No teste em questão, o ambiente de estresse foi fornecido por meio do peróxido de hidrogênio. O tratamento com o extrato de própolis na concentração de 25,00 µg/mL promoveu a inibição de 2,33 - 22,85% da ativação desses genes em ambiente oxidativo, demonstrando

que a própolis diminui o estresse da célula, e, conseqüentemente, reduz a necessidade de transcrição desses genes (AL NAGGAR *et al.*, 2016).

De maneira semelhante, ZHANG *et al.* (2015) e ZHANG *et al.* (2016) analisaram a expressão de genes antioxidantes em macrófagos. A exposição ao extrato de própolis (2,50; 10,00 e 15,00 µg/mL) aumentou significativamente a expressão de tais genes, demonstrando a capacidade da própolis em induzir a síntese de mediadores antioxidantes. Além disso, determinou-se que o tratamento com o extrato de própolis foi capaz de diminuir os níveis intracelulares de EROs, mediante a indução de peróxido de hidrogênio, para quantidades menores do que as basais iniciais, estando de acordo com o resultado dos demais estudos (ZHANG *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2016).

#### **5.5.15 Testes *in vivo***

O trabalho de CAPUCHO *et al.* (2012) trouxe a avaliação do estresse oxidativo no epidídimo de ratos tratados com gavagem de própolis na concentração de 3,00; 6,00; e 10,00 mg/kg/dia, durante 56 dias. Ao final do processo, os ratos foram sacrificados e os epidídimos foram preparados e avaliados. O tratamento com o extrato aquoso de própolis conseguiu aumentar a produção de células reprodutivas, porém, não aumentou o ambiente oxidativo que geralmente acompanha esse crescimento. Não houve diferença nos valores do teste TBARS e na atividade da enzima CAT, apenas um aumento nos níveis de -SH, quando comparado com o grupo controle (CAPUCHO *et al.*, 2012).

CÉCERE *et al.* (2021) avaliaram parâmetros oxidativos no sangue de cordeiros suplementados com extrato de própolis nas concentrações de 150,00; 200,00 e 250,00 µL/kg/dia, durante 42 dias. Os resultados para o tratamento com 250,00 µL/kg/dia, no 42º dia, mostraram uma diminuição dos níveis de EROs (243,24 U DCF/mg de proteína no grupo controle e 250,94 no grupo tratado). Inesperadamente, houve diminuição nos níveis de atividade da SOD (7,17 U SOD/mg de proteína no grupo controle e 6,40 no grupo tratado) e aumento da expressão de NO (4,70 mmol NO/mg de proteína no grupo controle e 5,34 no grupo tratado). Porém, houve aumento nos níveis de tiois advindos de proteínas (3,11 mmol SH/mL no grupo controle e 5,37 no grupo tratado) e de outras fontes (4,41 mmol/mL no grupo controle e 6,55 no grupo tratado), bem como de nitritos/nitratos, amplamente conhecidos pela sua capacidade inflamatória (CÉCERE *et al.*, 2021).

YONAR *et al.* (2012) também realizaram testes em parâmetros hematológicos, além de análises específicas em órgãos; porém, seus espécimes eram peixes (*Ciprinus carpio carpio*) expostos ao pesticida clorpirifós. No grupo controle que recebeu apenas o pesticida, houve piora dos parâmetros, indicando estresse oxidativo: aumento dos níveis de MDA e da atividade da SOD, diminuição da atividade da CAT e de glutathione reduzida. O tratamento com a própolis (10,00 mg de própolis/kg de peso corporal) resultou na reversão dos parâmetros para níveis normais. Porém, o tratamento exclusivo com a própolis não teve efeito significativo nos valores dos testes (YONAR *et al.*, 2012). Experimento semelhante foi realizado por YONAR *et al.*, 2014. Porém, dessa vez, os peixes foram expostos ao pesticida malation. Novamente, os parâmetros de estresse oxidativo estavam alterados no grupo exposto a essa substância, e houve melhora significativa quando o tratamento de própolis foi iniciado (níveis de MDA, SOD, CAT, glutathione reduzida e glutathione peroxidase (YONAR *et al.*, 2014).

O mesmo grupo deu continuidade à linha de pesquisa ao analisar o efeito da dieta de própolis em lagostins e em seus ovos. Essa suplementação de material natural obteve resultados de diminuição da peroxidação lipídica, com decréscimo dos níveis de MDA, e melhora na atividade das enzimas antioxidantes (YONAR *et al.*, 2017).

DA SILVEIRA *et al.* (2016) estudaram o efeito da própolis no comportamento e em parâmetros hematológicos de estresse oxidativo em ratos *Wistar*, logo após testes estressantes, como nado forçado e testes de ansiedade de campo aberto. Notou-se que o tratamento com o EEP de própolis amarela (1,00; 3,00; 10,00; e 30,00 mg/kg) reduziu a produção de NO e MDA. Ainda, não houve alteração no nível de enzimas como catalase e superóxido dismutase, induzidas por estresse, e nem dos valores do teste ABTS (DA SILVEIRA *et al.*, 2016).

O trabalho desenvolvido por JEONG *et al.* (2012) tinha como objetivo analisar o efeito neuroprotetivo de extratos aquosos de própolis em cérebro de ratos expostos ao estresse oxidativo. Os resultados indicaram que o tratamento diminuiu a morte celular quando exposta ao peróxido de hidrogênio, bem como houve decaimento da liberação de enzimas intracelulares (representada pela lactato desidrogenase), indicando que a membrana plasmática estava intacta em grande parte das células (JEONG *et al.*, 2012).

RIVERA-YAÑEZ *et al.* (2018) avaliaram a atividade enzimática presente no pâncreas de ratos com modelo induzido de diabetes por injeção intraperitoneal de estreptozotocina (130,00 mg/kg). O tratamento com a própolis foi realizado diariamente, durante 15 dias, na dose de 0,30 g/kg/dia. Os métodos colorimétricos de avaliação da atividade enzimática mostraram que houve um aumento na atividade das enzimas SOD, CAT e GPx (glutathione peroxidase), quando comparado com os grupos controles. Isso demonstra a capacidade da própolis em combater estresse oxidativo patológico mesmo em sistemas orgânicos (RIVERA-YAÑEZ *et al.*, 2018).

SALEH (2012) estudou os efeitos protetivos da própolis contra hepatotoxicidade provocada pela administração de 4-terciário-octilfenol (100,00 mg/kg), durante seis semanas. Isso gerou uma diminuição da atividade enzimática de GST (glutathione S-transferase), SOD e CAT, demonstrando o papel dessa substância em causar estresse oxidativo nos tecidos avaliados. O tratamento com extratos aquosos de própolis (100,00 mg/kg) conseguiu aumentar o nível de todas as enzimas, inclusive, acima dos valores encontrados nos grupos controle que não receberam estresse externo. Uma das possibilidades de mecanismo de ação desse produto natural é a presença de compostos minerais traços, como  $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  e  $Ca^{2+}$ , responsáveis por reativação de tais enzimas. Além disso, o grupo tratado com própolis também demonstrou redução nos níveis de MDA nos hepatócitos, performado através do teste TBARS (SALEH, 2012).

O trabalho desenvolvido por TOHAMY *et al.* (2014) analisou o efeito, dentre outras atividades, de extratos aquosos de própolis egípcia no *status* oxidativo de tecidos de ratos (*Mus musculus*) expostos a cisplatina (2,80 mg/kg, duas vezes por semana, durante 2 semanas). Tais animais demonstraram um aumento do estresse oxidativo, devido ao acréscimo nos níveis de peroxidação lipídica (TBARS) e diminuição da atividade de fatores antioxidantes, como a catalase e a glutathione. O grupo que recebeu o tratamento com própolis (8,40 mg/kg/dia, durante 14 dias) conseguiu reverter satisfatoriamente a peroxidação e retornar os valores normais das enzimas (CAT e GSH) (TOHAMY *et al.*, 2014).

WIWEKOWATI *et al.* (2020) estudaram o efeito anti-peroxidação lipídica, por um *kit* de ELISA que analisa os níveis de MDA existentes no meio. Os ratos (*Rattus norvegicus*) foram submetidos a colocação de um corpo estranho na mandíbula (mola helicoidal) e seu

sangue foi retirado para fins de análise. Os resultados obtidos demonstraram que os grupos tratados com o gel de própolis tiveram valores reduzidos de MDA (WIWEKOWATI *et al.*, 2020).

### 5.5.16 Outras metodologias

Nessa sessão, foram compilados os dados de ensaios usados com menor frequência nos trabalhos selecionados.

O método Fosfomolibdênio é usado para avaliar a capacidade antioxidante total de uma amostra, avaliando tanto os compostos lipofílicos quanto os hidrofílicos (ARAÚJO *et al.*, 2020). Baseia-se na redução do molibdênio VI para V, em ambiente ácido, com posterior formação de um complexo entre essa molécula e o fosfato, cuja coloração é esverdeada (BÉJI-SRAIRI *et al.*, 2020). Tem como vantagens o baixo custo, simplicidade, somado ao fato de que pode ser usado para matrizes complexas, como a própolis (ARAÚJO *et al.*, 2020).

Outro método utilizado é o *SNPAC* (*Silver Nanoparticles Antioxidant Capacity*). Na presença de antioxidantes, há a redução do íon prata, presente no nitrato de prata, resultando em nanopartículas suspensas em solução, estabilizadas pelo citrato trissódico. Nesse momento, há a mudança de cor do meio de reação, que passa de amarelo pálido para marrom, sendo percebida em 423 nm (DĂRĂBAN *et al.*, 2019). Já o teste *FOX* (*Ferrous Oxidation-Xilenol Orange*) é uma metodologia espectrofotométrica que conta com a capacidade dos hidroperóxidos em oxidar o ferro de sua forma ferrosa para a férrica, em meio ácido. Quando isso ocorre, forma-se um complexo colorido com o laranja de xilenol, percebido em 560 nm (DUCA *et al.*, 2019).

Os resultados desses testes podem ser visualizados na Tabela 15.

**Tabela 15** Resultados do teste de avaliação da atividade antioxidante de extratos de própolis de abelha *Apis mellifera* por métodos variados obtidos dos materiais escolhidos para essa revisão bibliográfica.

Referência	Método	Resultado
ARAÚJO <i>et al.</i> , 2020	Fosfomolibdênio	22,72% (porcentagem de inibição quando comparado com ácido ascórbico 200 µg/mL)

BÉJI-SRAIRI <i>et al.</i> , 2020	Fosfomolibdênio	158,66 – 220,44 mg EAG/g
DĂRĂBAN <i>et al.</i> , 2019	<i>SNPAC</i>	157,31 – 619,53 $\mu$ mol de Trolox/mL
DUCA <i>et al.</i> , 2019	<i>FOX</i>	Aproximadamente 18,00 – 32,00% de inibição de peróxido de hidrogênio (nas concentrações de 5,00 e 0,50 mg/mL)
EL MENIYY <i>et al.</i> , 2021	Fosfomolibdênio	6,81 – 80,82 mg de equivalentes de ácido ascórbico/g
KARADAL <i>et al.</i> , 2018	Status antioxidante total (TAS) - ELISA	7,30 – 9,45 $\mu$ mol de Trolox/g
SILVA <i>et al.</i> , 2011	Inibição da nitração da tirosina	CI <sub>50</sub> : 50,00 $\mu$ g/mL
TOUZANI <i>et al.</i> , 2018	Fosfomolibdênio	6,56 – 90,87 mg de equivalentes de ácido ascórbico/g

## 6 CONCLUSÃO

Tendo em vista as inúmeras propriedades biológicas atribuídas a própolis, como antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena, associadas a busca dos consumidores a produtos seguros (*GRAS*) e ecológicos, esse produto é alvo de pesquisas diversas ao redor do mundo, a fim de ser utilizado pela indústria alimentícia e farmacêutica em novas formulações, tanto como princípio ativo quanto como adjuvante.

Diante de todos os dados apresentados nesta revisão, pode-se concluir que as amostras de própolis possuem variações extremas nos quesitos de composição química e atividade antioxidante. Mas, no geral, esse produto natural apresentou grande poder antioxidante, em todos os testes relatados (tanto *in vitro* quanto *in vivo*).

Como já demonstrado na literatura diversas vezes, essa variação se dá devido a fatores externos, como a fonte botânica, sazonalidade, espécie de abelha, método de coleta, extração e testes das atividades biológicas. Notou-se uma maior existência de compostos ativos nos períodos quentes do ano, nos trabalhos que avaliaram a sazonalidade. Quanto ao melhor solvente, como já relatado anteriormente na literatura, estratos hidroalcoólicos na faixa de 60-80% (etanol:água) foram os mais eficientes.

Por isso, mostra-se necessária a padronização de técnicas, solventes e substâncias de



referência para garantir o uso da própolis na indústria moderna, facilitando o controle da qualidade da matéria prima e seus produtos seguintes.

Além disso, a determinação da origem botânica da própolis tem serventia não somente para garantir sua qualidade, mas também para guiar apicultores para perto da vegetação correta, aumentando a eficácia da produção. Ainda, o aumento da quantidade de formulações contendo própolis de forma indiscriminada preocupa pesquisadores de todo mundo, fazendo com que surjam, com urgência, métodos padronizados.

## 7 REFERÊNCIAS

ABUBAKER, E. A.; FAGEER, A. S. M. Antioxidant capacity and mineral content of some sudanese propolis. **International Journal of Science Research**, v. 6, p. 1621-1626, 2017.

ADELMANN, J. Própolis: Variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2005.

AGUIAR, G. R. Estudo químico e avaliação biológica da própolis vermelha de Alagoas. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2015.

ALENCAR, S. M. *et al.* 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.

AL NAGGAR, Y. *et al.* Chemical characterization and antioxidant properties of Canadian propolis. **Journal of apicultural research**, v. 55, n. 4, p. 305-314, 2016.

ALSAYED, M. F. S. *et al.* Biological control of yeast contamination of industrial foods by propolis. **Saudi journal of biological sciences**, v. 27, n. 3, p. 935-946, 2020.

ALVES, C. J. Microencapsulação de própolis utilizando matrizes proteicas para aplicação como ingrediente funcional em alimentos. Tese (Doutorado em Tecnologia dos Alimentos) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 2018.

ALVES, C. Q. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ANDRADE, J. K. S. *et al.* Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129-138, 2017.

ANDRADE, J. K. S. *et al.* Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown, green and red propolis. **Food research international**, v. 109, p. 278-287, 2018.

ARAÚJO, A. B. C. *et al.* Prospecção Química e Avaliação da Atividade Biológica da Própolis de Salinópolis, Pará. *Revista Virtual de Química* v. 12, n. 2, p. 492-499, 2020.

ARANGUENA SALAZAR, E. Evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos del propóleo producido por abejas (*Apis mellifera*) recolectado por los métodos de raspado y rejilla de plástico en las comunidades campesinas de Huinchos Patacocha y Chiara–provincia Andahuaylas. Tese (Título Profissional de Engenheiro Agroindustrial) – Faculdade de Engenharia, Universidade Nacional José María Arguedas. Andahuaylas. 2019.

ARSLAN, M. *et al.* Chemical and biological characteristics of propolis from *Apis mellifera* caucasica from the Ardahan and Erzurum provinces of Turkey: a comparative study. **Arhiv za higijenu rada i toksikologiju**, v. 72, n. 1, p. 53-69, 2021.

ARRUDA, R. E. D. S. Efeito da sazonalidade na composição química e atividades antimicrobiana, antioxidante e tripanossomicida de extratos brutos de própolis vermelha de Alagoas. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Escola de Enfermagem e Farmácia, Universidade Federal de Alagoas. Maceió. 2019.

AUGUSTO-OBARA, T. R. *et al.* Benefits of superfine grinding method on antioxidant and antifungal characteristic of Brazilian green propolis extract. **Scientia Agricola**, v. 76, n. 5, p. 398-404, 2019.

BAKKALOGLU, Z; ARICI, M; KARASU, S. Optimization of ultrasound-assisted extraction of turkish propolis and characterization of phenolic profile, antioxidant and antimicrobial activity. **Food Science and Technology**, 2021.

BALBOA, N. *et al.* Evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana de un propóleo chileno sobre muestras clínicas de exudados bucofaríngeos y cepas ATCC. **Boletín Latinoamericano Y Del Caribe De Plantas Medicinales Y Aromáticas**, v. 17, n. 6, p. 541 - 554, 2018.

BARBOSA, M. H. *et al.* Ação terapêutica da própolis em lesões cutâneas. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 22, p.318-322, 2009.

BASTOS, E. M. A. F. *et al.* *In vitro* study of the antimicrobial activity of Brazilian propolis against *Paenibacillus larvae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 97, n. 3, p. 273-281,

2008.

BÉJI-SRAIRI, R. *et al.* Ethanolic extract of Tunisian propolis: chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative properties. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 5, p. 917-927, 2020.

BHARGAVA, H. R. *et al.* Antioxidative Analysis and Antagonistic Activity of *Apis* and *Trigona* Propolis Collected from Different Geo Locations. **Iranian (Iranica) Journal of Energy & Environment**, v. 5, n. 4, 2014.

BHUYAN, D. J. *et al.* Broad-spectrum pharmacological activity of Australian propolis and metabolomic-driven identification of marker metabolites of propolis samples from three continents. **Food & Function**, v. 12, n. 6, p. 2498-2519, 2021.

BONAMIGO, T. *et al.* Antioxidant and citotoxic activity of propolis of *Plebeia droryana* and *Apis mellifera* (Imenoptera, Apidae) from the Brazilian Cerrado biome. **PloS one**, v. 12, n. 9, 2017.

BOONSAI, P.; PHUWAPRAISIRISAN, P.; CHANCHAO, C. Antibacterial activity of a cardanol from Thai *Apis mellifera* propolis. **International journal of medical sciences**, v. 11, n. 4, p. 327, 2014.

BOUFADI, Y. M. *et al.* Characterization and antioxidant properties of six Algerian propolis extracts: etil acetate extracts inhibit mieloperoxidase activity. **International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 2, p. 2327-2345, 2014.

BOULECHFAR, S. *et al.* Investigation of Antioxidant and Anticholinesterase Potential of Essential Oil and Methanolic Extract of Propolis from Mila Region. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 9, n. 6, p. 434-444, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N° 23, de 15 de fevereiro de 2005. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 15 de fevereiro de 2005. Aprova o “Regulamento técnico do uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras – subcategoria creme vegetal e margarinas”. Diário Oficial da União, Brasília, 16 fev. 2005. Disponível em: <

[https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0023\\_15\\_02\\_2005.html](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0023_15_02_2005.html)>.

Acesso em 31 de out. de 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 11 de 20 de Outubro de 2000. Anexo VII. - Regulamento de Identidade e Qualidade de Extrato de Própolis. Disponível em: < [https://www.dourados.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/05/RTIQ-Mel-completo-IN-11\\_2000.pdf](https://www.dourados.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/05/RTIQ-Mel-completo-IN-11_2000.pdf)>. Acesso em 31 de out. de 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis, conforme consta dos Anexos desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União de 23/01/2001, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 64, de 18 de dezembro de 2008. Capítulo III. Regulamento técnico dos Sistemas produtivos e das práticas de manejo orgânico apícola. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/in-no-64-de-18-de-dezembro-de-2008.pdf/view>>. Acesso em: 31 de out. de 2021.

BUCIO-VILLALOBOS, C. M.; MARTÍNEZ-JAIME, O. A. Actividad antibacteriana de un extracto acuoso de propóleo del municipio de Irapuato, Guanajuato, México. *Agronomía Mesoamericana*, v. 28, n. 1, p. 223-227, 2017.

CABRAL, I. S. R. *et al.* The correlation between the phenolic composition and biological activities of two varieties of Brazilian propolis (G6 and G12). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 3, p. 557-564, 2012.

CALEGARI, M. A. *et al.* Propolis from Southwest of Parana produced by selected bees: Influence of seasonaliti and food supplementation on antioxidant activity and phenolic profile. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 1, p. 45-55, 2017.

CALEGARI, M. A. Espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR) e calibração multivariada: desenvolvimento de modelos PLS para a determinação da atividade

antioxidante em amostras de própolis. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco. 2018.

CAO, X. P. *et al.* Mechanisms underlying the wound healing potential of propolis based on its *in vitro* antioxidant activity. **Phytomedicine**, v. 34, p. 76-84, 2017.

CAPUCHO, C. *et al.* Green Brazilian propolis effects on sperm count and epididymis morphology and oxidative stress. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 11, p. 3956-3962, 2012.

CASTALDO S; CAPASSO, F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia** 73: S1-6, 2002.

CASTRO, C. *et al.* Identification of phenolic compounds by HPLC-ESI-MS/MS and antioxidant activity from Chilean propolis. **Food Research International**, v. 64, p. 873-879, 2014.

CAVALARO, R. I. Atividade antioxidante de extratos de própolis verde em sistemas lipídicos emulsionados. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicabana. 2017.

CAVALARO, R. I.; FABRICIO, L. F. F.; VIEIRA, T. M. F. D. S. Ultrasound-Assisted Extraction of Antioxidants from *Baccharis dracunculifolia* and Green Propolis. **Processes**, v. 8, n. 12, p. 1530, 2020.

CÉCERE, B. G. O *et al.* Addition of propolis to milk improves lactating lamb's growth: effect on antimicrobial, antioxidant and immune responses in animals. **Small Ruminant Research**, v. 194, p. 106265, 2021.

CEYLAN, Ö.; HALIME, A. L. I. Ç. Antibiofilm, Antioxidant and Quorum Quenching Activities of Propolis Samples from Southwest Anatolia. **Bee Studies**, v. 12, n. 2, p. 44-50, 2020.

COELHO, J. P. M. Identificação e quantificação de compostos fenólicos em própolis da região sul do Brasil. Avaliação da atividade antioxidante por técnicas espectroscópicas e eletroquímicas. Dissertação (Mestrado em Farmácia e Química de Produtos Naturais) –

Instituto Politécnico de Bragança, Universidade de Salamanca. Bragança. 2013.

COELHO, J. *et al.* Phenolic composition and antioxidant activity assessment of southeastern and south Brazilian propolis. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 1, p. 21-31, 2017.

CORREA, W. R. *et al.* ESI-MS fingerprinting of residues of green propolis, and evaluation of their antioxidant and antimicrobial activities. **Journal of Apicultural Research**, v. 55, n. 1, p. 1-7, 2016.

COSTA-NETO, E. M. Recursos animais utilizados na medicina tradicional dos índios Pankararé que habitam no nordeste do estado da Bahia, Brasil. **Actualidades Biológicas**, v. 21, n. 70, p. 69-79, 1999.

COTTICA, S. M. *et al.* 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.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1830, n. 6, p. 3670–3695, 2013.

CRANE, E. The World history of beekeeping and honey hunting. New York: **Routledge**, p. 682p, 1999.

CRUZ, M. A. O. Evaluation and characterization of antioxidant and antigenotoxic properties of Portuguese propolis. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Bio-emprededorismo em Plantas Aromáticas e Mediciniais) – Escola de Ciências. Universidade do Minho. 2011.

DA CRUZ ALMEIDA, E. T. *et al.* Chemical and microbiological characterization of tinctures and microcapsules loaded with Brazilian red propolis extract. **Journal of pharmaceutical analysis**, v. 7, n. 5, p. 280-287, 2017.

DA COSTA, L. A. M. A. *et al.* Teor de fenólicos e atividade antioxidante de própolis em áreas de floresta e savana de Roraima. **RCT-Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 2, n. 3, 2016.

DA CUNHA, G.F. Biofilmes à Base de Amido Incorporados com Extrato Etanólico de Própolis. Dissertação (Mestrado em Tecnologia dos Alimentos) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. Rio Verde. 2017.

DA GRAÇA MIGUEL, M. *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory and acetylcholinesterase inhibitory activities of propolis from different regions of Morocco. **Food Science and Biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 313-322, 2014.

DĂRĂBAN, A. *et al.* The evaluation of antioxidant capacity of propolis originating from Western Romania. **FARMACIA**, vol. 67, 1, 2019.

DA SILVA, C. *et al.* Determination of total phenolic compounds and antioxidant activity of ethanolic extracts of propolis using ATR-FT-IR spectroscopy and chemometrics. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 7, p. 2013-2021, 2018.

DA SILVA, C. C. F. *et al.* Chemical characterization, antioxidant and anti-HIV activities of a Brazilian propolis from Ceará state. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 3, p. 309-318, 2019.

DA SILVA, F. C. *et al.* Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 1, p. 28-36, 2013.

DA SILVA, K. C. M. Os diferentes tipos de própolis e suas indicações: uma revisão da literatura. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) - Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande. Pmbal. 2018.

DA SILVA, S. J. R.; DA SILVA, O. R. Apicultura: Estudo do agronegócio em Roraima - Beekeeping: Study of agribusiness in Roraima. **Fundação Estadual Meio Ambiente, Ciência e Tecnologia de Roraima**. Boa vista, Roraima, 2007.

DA SILVEIRA, C. C. S. D. M. *et al.* Neurobehavioral and antioxidant effects of ethanolic extract of yellow propolis. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016.

DE ALMEIDA, C. P. *et al.* Obtenção e caracterização de microencapsulados de caseinatos



carregados com extrato de própolis vermelha. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Escola de Enfermagem e Farmácia, Universidade Federal de Alagoas. Maceió. 2017.

DE CARVALHO, E. B. T. Efeitos dos isômeros conjugados do ácido linoleico sobre a peroxidação lipídica em ratos. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo. 2011.

DE FRANCISCO, L. *et al.* Evaluation of radical scavenging activity, intestinal cell viability and antifungal activity of Brazilian propolis by-product. **Food Research International**, v. 105, p. 537-547, 2018.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DE LIMA, V. H. M. *et al.* Biological properties of volatile oil from Brazilian brown propolis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 6, p. 807-810, 2019a.

DE LIMA, D. R. F. *et al.* Avaliação das propriedades e potencialidades da própolis verde e sua fonte botânica *Baccharis dracunculifolia*. **Revista Tecnologia e Tendências**, v. 10, n. 2, p. 93-110, 2019b.

DEL RÍO DEL ROSAL, E. *et al.* Estudio de la actividad antioxidante y antitumoral del propóleo. **Ars Pharmaceutica (Internet)**, v. 58, n. 2, p. 75-81, 2017.

DE-MELO, A. A. M. *et al.* Antioxidant activity of propolis. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 44, n. 3, p. 341-348, 2014.

DE MENDONÇA, I. C. G. Própolis vermelha alagoana: triagem fotoquímica, atividade antioxidante e citotoxicidade em células de linhagens tumorais. Dissertação (Mestrado em Pesquisa em Saúde) – Centro Universitário CESMAC. Maceió. 2014.

DE MORAIS, D. V. *et al.* Active antioxidant phenolics from Brazilian red propolis: an optimization study for their recovery and identification by LC-ESI-QTOF-MS/MS. **Antioxidants**, v. 10, n. 2, p. 297, 2021.

DE OLIVEIRA, S. C.; ANDOLFATTO, S. Otimização do processo de extração de compostos bioativos da própolis produzida por abelhas geneticamente modificadas. Orientadora: Tatiane Luiza Cadorin Oldoni. 54 f. TCC (Graduação) - Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco. 2014. Disponível em: [http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/15288/2/PB\\_COQUI\\_2013\\_2\\_16.pdf](http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/15288/2/PB_COQUI_2013_2_16.pdf).

Acesso em 6 jul. 2021.

DE OLIVEIRA, T. I. F. Efeitos tóxicos de amostras de própolis português: potencial antioxidante e atividades biológicas de extratos e misturas. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular, Biotecnologia e Bioempreendedorismo em Plantas) - Escola de Ciências, Universidade de Minho. 2015.

DE SOUZA, E. A. Própolis na dieta de abelhas *Apis mellifera* L. e seu efeito no sistema imune, expressão de genes após o desafio bacteriano e detoxificação frente ao agroquímico fipronil. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2016.

DE SOUZA, E. C. A. *et al.* Chemical compositions and antioxidant and antimicrobial activities of propolis produced by *Frieseomelitta longipes* and *Apis mellifera* bees. **Química Nova**, v. 41, n. 5, p. 485-491, 2018.

DEVEQUI-NUNES, D. *et al.* Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. **PLoS One**, v. 13, n. 12, p. e0207676, 2018.

DING, Q. *et al.* Chinese Propolis: Ultrasound-assisted enhanced ethanolic extraction, volatile components analysis, antioxidant and antibacterial activity comparison. **Food Science & Nutrition**, v. 9, n. 1, p. 313-330, 2021.

DO NASCIMENTO, T. G. *et al.* Modified release microcapsules loaded with red propolis extract obtained by spray-dryer technique. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 138, n. 5, p. 3559-3569, 2019.

DO NASCIMENTO, T. G. *et al.* Polymeric Nanoparticles of Brazilian red propolis extract: preparation, characterization, antioxidant and leishmanicidal activity. **Nanoscale research**

**letters**, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2016.

DUCA, A. *et al.* Identification of resveratrol as bioactive compound of propolis from western Romania and characterization of phenolic profile and antioxidant activity of ethanolic extracts. **Molecules**, v. 24, n. 18, p. 3368, 2019.

EL-GUENDOZ, S. *et al.* Anti-acetylcholinesterase, antidiabetic, anti-inflammatory, antitirozinase and antixanthine oxidase activities of Moroccan propolis. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 51, n. 8, p. 1762-1773, 2016.

EL MENIYY, N. *et al.* Influence of Geographic Origin and Plant Source on Piscochemical Properties, Mineral Content, and Antioxidant and Antibacterial Activities of Moroccan Propolis. **International Journal of Food Science**, v. 2021, 2021.

EL SOHAIMI, S. A.; MASRY, S. H. D. Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of Egyptian and Chinese propolis. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 14, p. 1116-1124, 2014.

ERTÜRK Ö. *et al.* An *in vitro* study on antimicrobial and antioxidant activity of propolis from Rize Province of Turkey. **Mellifera**, 16(1), 4-18. 2016.

EZZAT, S. M. *et al.* Cytotoxicity, antioxidant, anti-inflammatory activity, and GC-MS analysis of Egyptian propolis. **Comparative Clinical Pathology**, 28(6), 1589-1598. 2019.

FADAKA, A. O. *et al.* Significance of antioxidants in the treatment and prevention of neurodegenerative diseases. **The Journal of Phytopharmacology**, v. 8, n. 2, p. 75-83, 2019.

FALCÃO, S. I. D. M. Chemical Composition of Portuguese Propolis. Bioactive Properties. Tese (Doutorado em Química) – Faculdade de Ciências, Universidade do Porto. 2013.

FANGIO, M. F. *et al.* Chemical characterization and antimicrobial activity against *Paenibacillus larvae* of propolis from Buenos Aires province, Argentina. **Journal of Apicultural Research**, 58(4), 626-638. 2019.

FARIAS AZEVEDO, L. *et al.* Polymeric nanoparticle systems loaded with red propolis extract: a comparative study of the encapsulating systems, PCL-Pluronic versus Eudragit®

E100-Pluronic. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 2, p. 255-270, 2018.

FERNANDES JÚNIOR, A. *et al.* The antibacterial activity of propolis produced by *Apis mellifera* L. and Brazilian stingless bees. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 7, n. 2, p. 173-182, 2001.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da associação médica brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, J. M. Características sensoriais, físico-químicas e atividade biológica da própolis produzida no semiárido do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Departamento de Ciências Animais, Universidade Federal Rural do Semiárido. Mossoró. 2015.

FERREIRA, J. M. Própolis e geoprópolis verde do semiárido do Brasil: Caracterização química, origem botânica e atividade antioxidante. Dissertação (Doutorado em Ciência Animal) – Departamento de Ciências Animais, Universidade Federal Rural do Semiárido. Mossoró. 2019.

FERREIRA, J. M. *et al.* New propolis type from north-east Brazil: chemical composition, antioxidant activity and botanical origin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 11, p. 3552-3558, 2017.

FERREIRA, V. U. Caracterização química, atividades antioxidante, antileucêmica e antimicrobiana da própolis âmbar sul brasileira. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Pampa. São Gabriel. 2017.

FIANCO, A. L. B. *et al.* Estudo sobre a atividade antifúngica e antioxidante de extratos de própolis obtidos com CO<sub>2</sub> supercrítico. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Faculdade de Engenharia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2014.

FREIRES, M. A. L. *et al.* Os tipos de própolis e sua utilização em lesões cutâneas. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 13, n. 4, p. 25-29, 2019.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 1, p. 171-178, 2006.

GALEOTTI, F. *et al.* Selective treatment to reduce contamination of propolis by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) still preserving its active polyphenol component and antioxidant activity. **Natural product research**, v. 31, n. 17, p. 1971-1980, 2017.

GARCÍA, L. R. P. *et al.* Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleos en el Municipio de La Unión (Antioquia, Colombia). **Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín**, v. 63, n. 1, p. 5373-5383, 2010.

GARCIA, R. C. *et al.* Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre a *Pasteurella multocida* “*in vitro*” e em coelhos. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 26, n. 1, p. 69-77, 2004.

GARGOURI, W. *et al.* Evaluation of bioactive compounds and biological activities of Tunisian propolis. **Lwt**, v. 111, p. 328-336, 2019.

GOKDUMAN, K. *In vitro* investigation of anti-cancer activity of propolis on hepatocellular carcinoma cells. **Medicine**, v. 8, n. 3, p. 557-62, 2019.

GOMES, L. F. Avaliação das atividades antioxidante, antimicrobiana e enzimática do extrato aquoso de folhas de *Miconia chamissois* Naudin. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Brasília, 2017.

GONÇALVES, G. M. S.; SANTOS, N. P.; SREBERNICH, S. M. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis and açai (*Euterpe oleracea* Mart) extracts. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 3, p. 349-356, 2011.

GRAIKOU, K. *et al.* Characterization and biological evaluation of selected Mediterranean propolis samples. Is it a new tipe?. **LWT-Food Science and Technology**, v. 65, p. 261-267, 2016.

GUO, C. *et al.* Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by *FRAP* assay. **Nutrition research**, v. 23, n. 12, p. 1719-1726, 2003.

GUO, X. *et al.* Chemical compositions and antioxidant activities of water extracts of Chinese

propolis. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 23, p. 12610-12616, 2011.

HABERMANN, E. *et al.* Antioxidant activity and phenol content of extracts of bark, stems, and young and mature leaves from *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, p. 898-904, 2016.

HAMES-KOCABAS, E. E. *et al.* Volatile composition of anatolian propolis by headspace-solid-phase microextraction (HS-SPME), antimicrobial activity against food contaminants and antioxidant activity. **Journal of Medicinal Plants Research**, 7(28), 2140-2149. 2013.

LEVER, L. *et al.* A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 8, p. 2559-2569, 2017.

HONEYBEE GENOME SEQUENCING CONSORTIUM *et al.* Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. **Nature**, v. 443, n. 7114, p. 931, 2006.

HUANG, S. *et al.* Recent advances in the chemical composition of propolis. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 19610-19632, 2014.

IKEDA, N. Y. Evaluation of the residues from the ethanolic extraction of organic propolis as a source of biological compounds. Tese (Doutorado em Ciência de Alimento e Tecnologia) - Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2020.

IKEGAKI, M. Determinação de qualidade de propolis de *Apis mellifera* africanizada da região sul do Brasil: avaliação de algumas propriedades físico-químicas e biológicas da propolis. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2001.

IRIGOITI, Y.; YAMUL, D. K.; NAVARRO, A. S. Co-crystallized sucrose with propolis extract as a food ingredient: Powder characterization and antioxidant stability. **LWT**, v. 143, p. 111164, 2021.

ISLA, M. I. *et al.* Effect of seasonal variations and collection form on antioxidant activity of propolis from San Juan, Argentina. **Journal of medicinal food**, v. 12, n. 6, p. 1334-1342, 2009.

JANSEN, C. Própolis: fitoquímicos e atividade antioxidante, antibacteriana e citotóxica. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 2015.

JEONG, C. H. *et al.* Phenolics of propolis and *in vitro* protective effects against oxidative stress induced cytotoxicity. **Journal of Agriculture and Life Science**, v. 46, n. 3, p. 87-95, 2012.

JIANG, X. *et al.* Grouping, Spectrum–Effect Relationship and Antioxidant Compounds of Chinese Propolis from Different Regions Using Multivariate Analyses and Off-Line Anti-DPPH Assay. **Molecules**, v. 25, n. 14, p. 3243, 2020.

JUG, M.; KONČIĆ, M. Z.; KOSALEC, I. Modulation of antioxidant, chelating and antimicrobial activity of poplar chemo-type propolis by extraction procedures. **LWT-Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 530-537, 2014.

KALOGEROPOULOS, N. *et al.* Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. **Food chemistry**, v. 116, n. 2, p. 452-461, 2009.

KALTHOFF, S.; STRASSBURG, C. P. Contribution of human UDP-glucuronosyltransferases to the antioxidant effects of propolis, artichoke and silymarin. **Phytomedicine**, v. 56, p. 35-39, 2019.

KARADAL, F. *et al.* A study of antibacterial and antioxidant activities of bee products: Propolis, pollen and honey samples. **Ethiopian Journal of Health Development**, v. 32, n. 2, 2018.

KASOTE, D. M. *et al.* HPLC, NMR based chemical profiling and biological characterisation of Indian propolis. **Fitoterapia**, v. 122, p. 52-60, 2017.

KIZILTAS, H.; ERKAN, C. The effects of different beehives on propolis production and quality. **Food Science and Technology**, n. AHEAD, 2020.

KOO, H. *et al.* Effects of apigenin and farnesol on glucosyltransferase activity, biofilm viability and caries development in rats. **Oral microbiology and immunology**, v. 17, n. 6,

p. 337-343, 2002.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, v. 16, p. 433-441, 2003.

KUMAR, M. R. *et al.* Antimicrobial and DPPH free radical-scavenging activities of the ethanol extract of propolis collected from India. **Journal of Ecobiotechnology**, v. 3, n. 1, 2011.

KUMAZAWA, S. *et al.* Chemical and functional characterisation of propolis collected from East Andalusia (Southern Spain). **Phytochemical analysis**, v. 24, n. 6, p. 608-615, 2013.

KUMUL, R. K. *et al.* Propolis of *Apis mellifera* from Yucatán, México: Study of biological properties. **Ecosistemas y Recursos Agropecuarios**, v. 7, n. 3, 2020.

KUNRATH, C. A. *et al.* Application and evaluation of propolis, the natural antioxidant in Italian-type salami. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017.

KUNRATH, C. A.; SAVOLDI, D. C. Própolis como antioxidante em produtos cárneos: aplicação e avaliação em salame tipo italiano. Orientador: João F. Marchi. 69 f. TCC (Tecnólogo) - curso de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão. 2014. Disponível em: [http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/3452/1/FB\\_COALM\\_2014\\_2\\_01.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/3452/1/FB_COALM_2014_2_01.pdf). Acesso em 6 jul. 2021.

KUREK-GÓRECKA, A. M. *et al.* Antioxidant activity of ethanolic fractions of Polish propolis. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 67, n. 11-12, p. 545-550, 2012.

LABYAD, N. *et al.* Phytochemical antioxidant and antimicrobial study of Libyan propolis ethanolic extract. **International Journal of Herbal Medicine**, v. 4, p. 1-4, 2016.

LACERDA, R. C. C. Avaliação da composição química e atividade antioxidante da própolis orgânica de *Apis mellifera* visando à preservação ambiental do ecossistema envolvido. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2012.



LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.

LUIS-VILLAROYA, A. *et al.* Bioactive properties of a propolis-based dietary supplement and its use in combination with mild heat for apple juice preservation. **International journal of food microbiology**, v. 205, p. 90-97, 2015.

LUSTOSA, S. R. *et al.* Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 447-454, Sept. 2008.

MACHADO, B. A. S. *et al.* Chemical composition and biological activity of extracts obtained by supercritical extraction and ethanolic extraction of brown, green and red propolis derived from different geographic regions in Brazil. **PloS one**, v. 11, n. 1, p. e0145954, 2016.

MARCUSSI, M. C.; GUTIERREZ-GONÇALVES, M. E. J. Atividades antimicrobiana e antioxidante da própolis do estado do Ceará. **Revista Fitos**, v. 4, n. 1, p. 81-86, 2013.

MARQUES, R. A. C. Contributos para a elucidação do modo de ação de própolis português: o caso do própolis do Pereiro. Dissertação (Mestrado em Genética Molecular) – Universidade do Minho. 2015.

MASSARO, C. F. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of honeybee (*Apis mellifera* ligustica) propolis from subtropical eastern Australia. **The Science of Nature**, v. 102, n. 11-12, p. 68, 2015.

MASEK, A. *et al.* Electrochemical and spectrophotometric characterization of the propolis antioxidants properties. **International Journal of Electrochemistry Science**, v. 14, n. 2, p. 1231-1247, 2019.

MELLO, B. C. B. S; HUBINGER, M. D. Antioxidant activity and polyphenol contents in Brazilian green propolis extracts prepared with the use of ethanol and water as solvents in different pH values. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 12, p. 2510-2518, 2012.

MENDEZ-PFEIFFER, P. *et al.* Seasonality Modulates the Cellular Antioxidant Activity and

Antiproliferative Effect of Sonoran Desert Propolis. **Antioxidants**, v. 9, n. 12, p. 1294, 2020.

MENEZES, H. *et al.* Antibacterial properties of propolis and products containing propolis from Brazil. **Apidologie**, v. 28, n. 2, p. 71-76, 1997.

MIGUEL, M.G. *et al.* Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 16-23, 2014.

MIHAI, C. M. *et al.* Interactions among flavonoids of propolis affect antibacterial activity against the honeybee pathogen *Paenibacillus larvae*. **Journal of invertebrate pathology**, v. 110, n. 1, p. 68-72, 2012.

MOHDALY, A. A. A. *et al.* Phenolic extract from propolis and bee pollen: composition, antioxidant and antibacterial activities. **Journal of Food Biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 538-547, 2015.

MOLNÁR, S. *et al.* Comparative studies on polyphenolic profile and antimicrobial activity of propolis samples selected from distinctive geographical areas of Hungary. **Food Science and Technology International**, v. 23, n. 4, p. 349-357, 2017.

MONCAYO LUJÁN, M. D. R. *et al.* Antibacterial activity and phenolic content of propolis extracts obtained by different extraction methods. **Nova scientia**, v. 10, n. 20, p. 397-412, 2018.

MORAIS, M. L. *et al.* Determinação do potencial antioxidante *in vitro* de frutos do Cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 355-360, 2013.

MOREIRA, E. S. Coelenterazine: New luminescent probe to study reactive species. Orientador: Rafael Radi. 56 f. (Trabalho Especial) – Licenciatura em Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade da república. 2002. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/304581399\\_Coelenterazine\\_New\\_Luminescent\\_Probe\\_to\\_Study\\_Reactive\\_Species](https://www.researchgate.net/publication/304581399_Coelenterazine_New_Luminescent_Probe_to_Study_Reactive_Species). Acesso em 7 jul. 2021.

MOREIRA, L. *et al.* Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. **Food and Chemical toxicology**, v. 46, n. 11, p. 3482-3485, 2008.

MORENO, M. I. N. *et al.* Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucumán, Argentina) propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 68, n. 1-3, p. 97-102, 1999.

MOUHOUBI-TAFININE, Z.; OUCHEMOUKH, S.; TAMENDJARI, A. Antioxidant activity of some algerian honey and propolis. **Industrial Crops and Products**, v. 88, p. 85-90, 2016.

MOURA, F. F. Determinação das propriedades físico-químicas e biológicas da propolis produzida por *Apis mellifera* na região nordeste do Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2000.

NAIK, D. G.; VAIDYA, H. S. Antioxidant properties of volatile oil of Indian propolis. **Journal of ApiProduct ApiMedical Science**, v. 3, n. 2, p. 89-93, 2011.

NENADIS, N. *et al.* Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS<sup>•+</sup> assay. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 15, p. 4669-4674, 2004.

NINA, N. *et al.* Antibacterial activity, antioxidant effect and chemical composition of propolis from the Región del Maule, Central Chile. **Molecules**, v. 20, n. 10, p. 18144-18167, 2015.

NINA, N. *et al.* Chemical profiling and antioxidant activity of Bolivian propolis. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 96, n. 6, p. 2142-2153, 2016.

NORI, M. P. *et al.* Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 429-435, 2011.

OAKES, K. D.; VAN DER KRAAK, G. J. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. **Aquatic Toxicology**, v. 63, n. 4, p. 447-463, 2003.

OLDONI, T. L. C. *et al.* 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**, v. 26, n. 10, p. 2054-2062, 2015.

OLIVARES, I. R. B. Desenvolvimento, otimização e validação da técnica HS-SPME-GC/MS para análise de amostras obtidas do Rio Atibaia através da aplicação de uma sistemática ISO para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas. Tese (Doutorado em Ciências – Química Analítica) - Universidade de São Paulo. São Carlos. 2006.

OLIVEIRA, G. L. D. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH<sup>•</sup>: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 36-44, 2015.

OLIVEIRA, L. A. A. Potencial antimicrobiano dos extratos de própolis (Verde, Vermelha e Marrom). Orientadora: Patrícia de Oliveira Lima. 36 f. TCC (Graduação) - Bacharel em Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Rural do Semi Árido. Mossóro. 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/handle/prefix/3183>. Acesso em 7 jul. 2021.

OSÉS, S. M. *et al.* Bioactive properties of honey with propolis. **Food chemistry**, v. 196, p. 1215-1223, 2016.

OSÉS, S. M. *et al.* Phenolic profile, antioxidant capacities and enzymatic inhibitory activities of propolis from different geographical areas: Needs for analytical harmonization. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 75, 2020.

OZDAL, T. *et al.* Evaluation of Turkish propolis for its chemical composition, antioxidant capacity, anti-proliferative effect on several human breast cancer cell lines and proliferative effect on fibroblasts and mouse mesenchymal stem cell line. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 5, p. 627-638, 2018.

OZDAL, T. *et al.* Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis. **Food Research International**, v. 122, p. 528-536, 2019.

ÖZKÖK, A. *et al.* Determination of antioxidant activity and phenolic compounds for basic standardization of Turkish propolis. **Applied Biological Chemistry**, v. 64, n. 1, p. 1-10,

2021.

ÖZYÜREK, M. *et al.* A comprehensive review of *CUPRAC* methodology. **Analytical methods**, v. 3, n. 11, p. 2439-2453, 2011.

PANDOLFO, V. Z. Caracterização e efeito da variação sazonal da própolis orgânica produzida no sul do Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2014.

PATRIDGE, E. *et al.* An analysis of FDA-approved drugs: Natural products and their derivatives. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 2, p. 204–207, 2016.

PAULA, V. M. B. Caracterização química e biológica do própolis da “serra de Bornes” por TLC. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança. Bragança. 2012.

PAZIN, W. M. *et al.* Antioxidant activities of three stingless bee propolis and green propolis types. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 1, p. 40-49, 2017.

PEIXOTO, M. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of blends of propolis samples collected in different years. **LWT**, v. 145, p. 111311, 2021.

PEREIRA, A. D. S; SEIXAS, F. R. M. S.; DE AQUINO NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

PERMANA, A. D. *et al.* Phytosomal nanocarriers as platforms for improved delivery of natural antioxidant and photoprotective compounds in propolis: An approach for enhanced both dissolution behaviour in biorelevant media and skin retention profiles. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 205, p. 111846, 2020.

PRASNIEWSKI, A. Desenvolvimento de modelos de calibração multivariada para determinação de compostos fenólicos e atividade antioxidante em extrato etanólico de própolis utilizando a técnica FT-NIR. Orientadora: Tatiane Luiza Cadorin Oldoni. 60 f. TCC (Graduação) – Bacharel em Química, Departamento de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco. 2015. Disponível em:

<http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/5679>. Acesso em 7 jul. 2021.

PUSPHA, T. C.; REDDY, M. S. Pharmacological potentials of Propolis in urban lands *CAPEs*. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 1, p. -, 2019.

QUINTERO-MORA, M. L. *et al.* Efecto de extractos de propóleos mexicanos de *Apis mellifera* sobre el crecimiento *in vitro* de *Candida albicans*. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 25, n. 1, p. 22-26, 2008.

QUINTINO, R. L. *et al.* Brazilian Green Propolis: Chemical Composition of Essential Oil and Their *In vitro* Antioxidant, Antibacterial and Antiproliferative Activities. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, 2020.

RAMNATH, S.; VENKATARAMEGOWDA, S. Antioxidant activity of Indian propolis— An *in vitro* evaluation. **International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine**, v. 5, p. 79-85, 2016.

RAMÓN-SIERRA, J. *et al.* Partial characterization of ethanolic extract of *Melipona beecheii* propolis and *in vitro* evaluation of its antifungal activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 3, p. 319-324, 2019.

REIS, N. S. *et al.* Métodos eletroquímicos usados para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, 2009.

RIGHI, A. A. *et al.* Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 13, p. 2363-2370, 2011.

RISTIVOJEVIĆ, P. *et al.* Phenolic composition and biological activities of geographically different type of propolis and black cottonwood resins against oral streptococci, vaginal microbiota and phytopathogenic *Fusarium species*. **Journal of applied microbiology**, v. 129, n. 2, p. 296-310, 2020.

RISTIVOJEVIĆ, P. *et al.* Profiling of Turkish propolis subtypes: Comparative evaluation of their pitochemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities. **LWT**, v. 95, p. 367-379, 2018.

RIVERA-YAÑEZ, N. *et al.* Hypoglycaemic and antioxidant effects of propolis of Chihuahua in a model of experimental diabetes. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, 2018.

ROCHA, B. A. *et al.* Evaluation of a propolis water extract using a reliable RP-HPLC methodology and *in vitro* and efficacy and safety characterisation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

RODRÍGUEZ, Y. *et al.* Physicochemical characterization and evaluation of antioxidant activity of propolis collected in the atlántic department, Colombia. **Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica**, v. 15, n. 2, p. 303-311, 2012.

RODRÍGUEZ PÉREZ, B. *et al.* Chemical composition, antioxidant properties and antimicrobial activity of Mexican propolis. **Acta universitaria**, v. 30, 2020.

RUFINO, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (*FRAP*). **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, ISSN 1679-6535, 2006.

RUTTNER. Races of the bees. In: The hive and the honey bee. **Dadant & Sons**, Hamilton, Illinois. p. 20-38, 1986.

SALAS, A. L. *et al.* Biological activities of polyphenols-enriched propolis from Argentina arid regions. **Phytomedicine**, v. 23, n. 1, p. 27-31, 2016.

SALAS, A. L. *et al.* Zuccagnia-type Propolis from Argentina: A potential functional ingredient in food to pathologies associated to metabolic syndrome and oxidative stress. **Journal of Food Science**, v. 85, n. 8, p. 2578-2588, 2020.

SALAS, A. *et al.* Development of a bioproduct for medicinal use with extracts of Zuccagnia-type propolis. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 2, p. 1934578X1801300214, 2018.

SALEH, E. M. Antioxidant effect of aqueous extract of propolis on hepatotoxicity induced by octylphenol in male rats. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 20, n. 2, p. 68-81, 2012.

SALGUEIRO, F. B. Caracterização da própolis verde brasileira: substâncias fenólicas, atividade biológica e análise quimiométrica. Tese (Doutorado em Ciências - Concentração em Química Orgânica) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica. 2016.

SALGUEIRO, F. B.; CASTRO, R. N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. **Química Nova**, v. 39, n. 10, p. 1192-1199, 2016.

SÁNCHEZ, R. D. V. *et al.* Effect of physicochemical properties and phenolic compounds of bifloral propolis on antioxidant and antimicrobial capacity. **Nova scientia**, v. 12, n. 24, 2020.

SANPA, S. *et al.* Chemical profiles and antimicrobial activities of Thai propolis collected from *Apis mellifera*. **Chiang Mai Journal of Science**, v. 44, p. 438-448, 2017.

SARAL, Ö. *et al.* Evaluation of antioxidant activity of bee products of different bee races in Turkey. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 43, n. 4, p. 441-447, 2019.

SCHMIDT, E. M. *et al.* A comparison between characterization and biological properties of Brazilian fresh and aged propolis. **BioMed research international**, v. 2014, 2014a.

SCHMIDT, E. M. *et al.* Effect of extraction solvent on antiradical activity of the obtained propolis extracts. **Journal of Apicultural Research**, v. 53, n. 1, p. 91-100, 2014b.

SHAHBAZ, M. *et al.* Chemical profiling, HPLC characterization and in-vitro antioxidant potential of Pakistani propolis collected from peripheral region of Faisalabad. **Cellular and Molecular Biology**, v. 67, n. 1, p. 40-44, 2021.

SHEHATA, M. G. *et al.* Chemical analysis, antioxidant, citotoxic and antimicrobial properties of propolis from different geographic regions. **Annals of Agricultural Sciences**, 2020.

SHUBHARANI, R.; MAHESH, M.; YOGANANDA MURTI, V. Biosynthesis and characterization, antioxidant and antimicrobial activities of selenium nanoparticles from



ethanol extract of Bee Propolis. **Journal of Nanomedicine and Nanotechnology**, v. 10, n. 1, 2019.

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, F. A. M.; BORGES, M. F. M., FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SILVA, F. R. G. *et al.* Phytochemical screening and *in vitro* antibacterial, antifungal, antioxidant and antitumor activities of the red propolis Alagoas. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, p. 452-459, 2018.

SILVA, M. L. C. *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-681, 2010.

SILVA, M. O. Atividade antioxidante e composição de oligossacarídeos em subproduto obtido do processamento industrial da goiaba (*Psidium guajava*). Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2015.

SILVA, V. *et al.* Antioxidant activity of Uruguayan propolis. *In vitro* and cellular assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 12, p. 6430-6437, 2011.

SIME, D. *et al.* Total phenols and antioxidant activities of natural honeys and propolis collected from different geographical regions of Ethiopia. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 29, n. 2, p. 163-172, 2015.

SINGHAL, Manmohan *et al.* Evaluation of reducing power assay of chalcone semicarbazones. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 3, p. 639-645, 2011.

SOUSA, J. P. L. M. *et al.* Estudo químico e potencial antimicrobiano da própolis brasileira produzida por diferentes espécies de abelhas. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 5, p.

1480-1497, 2019.

SOUSA, R. M. F. *et al.* Atividade antioxidante de extratos de folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) usando métodos espectrofotométricos e voltamétricos *in vitro*. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, 2014.

SOUZA, P. M. *et al.* Optimization and purification of l-asparaginase from fungi: A systematic review. **Critical reviews in oncology/hematology**, v. 120, p. 194-202, 2017.

SUCUPIRA, N. R. *et al.* Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Journal of Health Sciences**, v. 14, n. 4, 2012.

SULAIMAN, G. M. *et al.* Chemical characterization of Iraqi propolis samples and assessing their antioxidant potentials. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 9, p. 2415-2421, 2011.

SUN, C. *et al.* Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of Beijing propolis extracts. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

SVEČNJAK, L. *et al.* Mediterranean Propolis from the Adriatic Sea Islands as a Source of Natural Antioxidants: Comprehensive Chemical Biodiversity Determined by GC-MS, FTIR-ATR, UHPLC-DAD-QqTOF-MS, DPPH and FRAP Assay. **Antioxidants**, v. 9, n. 4, p. 337, 2020.

TALERO, C.; HERNÁNDEZ, D.; FIGUEROA, J. Raw Propolis Microbiologic Quality and Soluble Solids of *Apis mellifera* Propolis Extracts in Colombia. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 109-118, 2012.

WALKER, R. B.; EVERETTE, J. D. Comparative reaction rates of various antioxidants with ABTS radical cation. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 4, p. 1156-1161, 2009.

TIVERON, A. P. *et al.* Chemical characterization and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of South Brazilian organic propolis. **PLoS One**, v. 11, n. 11, p. e0165588, 2016.

TIVERON, A. P. Caracterização e identificação de compostos com atividade antioxidante de própolis orgânica brasileira. Tese (Doutorado em Ciência – Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2015.

TOHAMY, A. A. *et al.* Assessment of anti-mutagenic, anti-histopathologic and antioxidant capacities of Egyptian bee pollen and propolis extracts. **Cytotechnology**, v. 66, n. 2, p. 283-297, 2014.

TORETI, V C. Estudo da influência da sazonalidade sobre algumas propriedades físico-químicas e biológicas da própolis de dois apiários do estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2011.

TOUZANI, S. *et al.* Chemical analysis and antioxidant content of various propolis samples collected from different regions and their impact on antimicrobial activities. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 11, n. 7, p. 436, 2018.

URREA-VICTORIA, V. *et al.* Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (*FRAP*) para extratos de algas. Instituto de Biociências: Universidade de São Paulo, 2016.

VALENTE, M. J. *et al.* Biological activities of Portuguese propolis: protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth *in vitro*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 1, p. 86-92, 2011.

VARGAS-SÁNCHEZ, R. D. *et al.* Propolis extract as antioxidant to improve oxidative stability of fresh patties during refrigerated storage. **Foods**, v. 8, n. 12, p. 614, 2019.

VARGAS-SÁNCHEZ, R. D.; TORRESCANO-URRUTIA, G. R.; SÁNCHEZ ESCALANTE, A. Physicochemical and microbiological characterization, and evaluation of the antibacterial and antioxidant activity of propolis produced in two seasons and two areas of the eastern edge of the Sonoran Desert. **Biotecnia**, v. 22, n. 3, p. 46-52, 2020.

VARGAS TAPIA, E. Identificação da fonte botânica, caracterização química e avaliação

das atividades biológicas das própolis coletadas no Peru. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2018.

VENEGAS, Y. *et al.* A new near-infrared method for simultaneous determination of caffeic acid phenethyl ester and antioxidant activity of propolis samples. **Journal of Apicultural Research**, v. 55, n. 1, p. 8-18, 2016.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. D. S.; BARREIRO, E. J. The natural products and the modern medicinal chemistry. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VIZZOTTO, E. Radicais livres e mecanismos de proteção antioxidante. Subject of Biochemical Fundamentals of Metabolic Disorders. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017.

WAGH, V. D. Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. **Advances in pharmacological sciences**, v. 2013, 2013.

WANG, X. *et al.* Relationship between total phenolic contents and biological properties of propolis from 20 different regions in South Korea. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 1-12, 2016.

WALI, A. F. *et al.* *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of propolis from Kashmir Himalaya region. **Free radicals and antioxidants**, v. 6, n. 1, p. 51-57, 2016.

WILSON, D. O. Sociobiology. **The Belknap Press**, Cambridge, p. 697, 1961.

WIWEKOWATI, W. *et al.* Antioxidant activity of *Apis mellifera* sp. Propolis extract from Java (Indonesia). **International Research Journal of Engineering, IT and Scientific Research**, v. 3, n. 5, p. 19-24, 2017.

WIWEKOWATI, W. *et al.* Indonesian Propolis Reduces Malondialdehyde Level and Increase Osteoblast Cell Number in Wistar Rats with Orthodontic Tooth Movement. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 8, n. A, p. 100-104, 2020.

XAVIER, J. D. A. *et al.* Polyphenol profile by UHPLC-MS/MS, anti-glycation, antioxidant

and cytotoxic activities of several samples of propolis from the northeastern semi-arid region of Brazil. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 1884-1893, 2017.

YONAR, M. E. *et al.* Protective role of propolis in chlorpyrifos-induced changes in the haematological parameters and the oxidative/antioxidative status of *Cyprinus carpio carpio*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2703-2708, 2012.

YONAR, S. M. *et al.* Effects of dietary propolis on the number and size of pleopadal egg, oxidative stress and antioxidant status of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz). **Animal reproduction science**, v. 184, p. 149-159, 2017.

YONAR, S. M. *et al.* Malathion-induced changes in the haematological profile, the immune response, and the oxidative/antioxidant status of *Cyprinus carpio carpio*: Protective role of propolis. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 102, p. 202-209, 2014.

YUAN, M. *et al.* A comparative study between Chinese propolis and Brazilian green propolis: metabolite profile and bioactivity. **Food & function**, v. 11, n. 3, p. 2368-2379, 2020.

YURTERI, Ü. Investigation of bioactivity and chemical content of Turkish propolis from Ankara province. Tese (Mestrado em Ciência – Biotecnologia) - MIDDLE EAST TECHNICAL UNIVERSITY. 2015.

ZEITOUN, R. *et al.* Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activity evaluation of the Lebanese propolis extract. **Current pharmaceutical biotechnology**, v. 20, n. 1, p. 84-96, 2019.

ZHANG, J. *et al.* Antioxidant activities and molecular mechanisms of the ethanol extracts of Baccharis propolis and Eucalyptus propolis in RAW64. 7 cells. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 10, p. 2220-2235, 2016.

ZHANG, J. *et al.* Comparisons of ethanol extracts of Chinese propolis (poplar type) and poplar gums based on the antioxidant activities and molecular mechanism. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

ŽIŽIĆ, J. B. *et al.* Chemical composition, cytotoxic and antioxidative activities of ethanolic

extracts of propolis on HCT-116 cell line. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 12, p. 3001-3009, 2013.

## 8. ANEXOS

### 8.1 Anexo 01

**Tabela 16** Estratégia de busca em cada base de dados escolhidas para esta revisão bibliográfica.

Base de dados	Estratégia de busca	Resultado
Google Acadêmico: Inglês	" <i>Apis mellifera</i> " AND "propolis" AND "antioxidant activity"	1000
Google Acadêmico: Português	" <i>Apis mellifera</i> " AND "propolis" AND "atividade antioxidante"	440
PubMed: Inglês	((("bees"[ <i>MESH</i> Terms] OR "bees"[All Fields] OR "apis"[All Fields]) AND "mellifera"[All Fields] AND ("propolis"[ <i>MESH</i> Terms] OR "propolis"[All Fields]) AND ("antioxidants"[Pharmacological Action] OR "antioxidants"[ <i>MESH</i> Terms] OR "antioxidants"[All Fields] OR ("antioxidant"[All Fields] AND "activity"[All Fields]) OR "antioxidant activity"[All Fields])) AND (2011:2021[pdat])	17
PubMed: Português	((("bees"[ <i>MESH</i> Terms] OR "bees"[All Fields] OR "apis"[All Fields]) AND "mellifera"[All Fields] AND ("propolis"[ <i>MESH</i> Terms] OR "propolis"[All Fields]) AND (("atividade"[All Fields] OR "atividades"[All Fields]) AND ("antioxidante"[All Fields] OR "antioxidantes"[All Fields])))	0
<i>SciELO</i> : Inglês	( <i>Apis mellifera</i> ) AND (propolis) AND (antioxidant activity)	12
<i>SciELO</i> : Português	( <i>Apis mellifera</i> ) AND (propolis) AND (atividade antioxidante)	0
<i>Cochrane Library</i> : Inglês	<i>Apis mellifera</i> in Title Abstract Keyword AND propolis in Title Abstract Keyword AND antioxidant activity in Title Abstract Keyword - (Word variations have been searched)	0
<i>Cochrane Library</i> : Português	<i>Apis mellifera</i> in Title Abstract Keyword AND propolis in Title Abstract Keyword AND atividade antioxidante in Title Abstract Keyword - (Word variations have been searched)	0
BVS: Inglês	( <i>Apis mellifera</i> ) AND (propolis) AND (antioxidant activity) AND (year_cluster:[2011 TO 2021])	21

BVS: Português	(( <i>Apis mellifera</i> ) AND (propolis) AND (atividade antioxidante) AND (year_cluster:[2011 TO 2021]))	02
Teses CAPEs: Inglês	" <i>Apis mellifera</i> " AND "propolis" AND "antioxidant activity"	14
Teses CAPEs: Português	" <i>Apis mellifera</i> " AND "propolis" AND "atividade antioxidante"	13
Scopus: Inglês	( TITLE-ABS-KEY ( " <i>Apis mellifera</i> " ) AND TITLE-ABS-KEY ( propolis ) AND TITLE-ABS-KEY ( "antioxidant activity" ) ) AND PUBYEAR > 2010 AND PUBYEAR < 2022	56
Scopus: Português	( TITLE-ABS-KEY ( " <i>Apis mellifera</i> " ) AND TITLE-ABS-KEY ( propolis ) AND TITLE-ABS-KEY ( "atividade antioxidante" ) ) AND PUBYEAR > 2010 AND PUBYEAR < 2022	0
CRD: Inglês	(( <i>Apis mellifera</i> ) AND (propolis) AND (antioxidant activity)) and ((Systematic review:ZDT and Bibliographic:ZPS) OR (Systematic review:ZDT and Abstract:ZPS) OR (Cochrane review:ZDT) OR (Cochrane related review record:ZDT) OR (Economic evaluation:ZDT and Bibliographic:ZPS) OR (Economic evaluation:ZDT and Abstract:ZPS) OR Project record:ZDT OR Full publication record:ZDT) IN DARE, NHSEED, HTA FROM 2011 TO 2021	0
CRD: Português	(( <i>Apis mellifera</i> ) AND (propolis) AND (atividade antioxidante)) and ((Systematic review:ZDT and Bibliographic:ZPS) OR (Systematic review:ZDT and Abstract:ZPS) OR (Cochrane review:ZDT) OR (Cochrane related review record:ZDT) OR (Economic evaluation:ZDT and Bibliographic:ZPS) OR (Economic evaluation:ZDT and Abstract:ZPS) OR Project record:ZDT OR Full publication record:ZDT) IN DARE, NHSEED, HTA FROM 2011 TO 2021	0
Embase: Inglês	' <i>Apis mellifera</i> ' AND propolis AND 'antioxidant activity' AND [2011-2021]/py	29
Embase: Português	' <i>Apis mellifera</i> ' AND propolis AND 'atividade antioxidante' AND [2011-2021]/py	0
Science Direct: Inglês	" <i>Apis mellifera</i> " AND "propolis" AND "antioxidant activity"	161
Science Direct: Português	" <i>Apis mellifera</i> " AND "propolis" AND "atividade antioxidante"	0



## 8.2 Anexo 02

**Tabela 17** Dados da metodologia de coleta e informações das amostras dos 173 materiais usados na presente revisão bibliográfica.

Referência	Local da Coleta	Abelha	Própolis	Período da Coleta	Extração	Vegetação/Possível origem botânica
ABUBAKER; FAGEER, 2017	Darfur e Kosti - Sudão	<i>A. mellifera</i>	-	-	EMP (1:3) Metanol 40% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) – 5 horas	-
AGUIAR, 2015	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	Vermelha	Junho (2006)	EEP Etanol 95% Maceração – 14 dias	<i>Dalbergia ecastapillum</i>
AL NAGGAR <i>et al.</i> , 2016	Saskatchewan, Ontario e British Columbia - Canadá	<i>A. mellifera</i>	-	2015	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração (temperatura ambiente) – 72 horas	-
ALVES, 2018	Rio Grande do Sul – Brasil	<i>A. mellifera</i> (africanizada)	Tipo 02	Novembro (2015)	EEP (1:10) Etanol 80% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 24 horas (microcápsula)	-
ANDRADE <i>et al.</i> , 2017	Alagoas e Sergipe – Brasil	<i>A. mellifera</i>	Marrom, verde e vermelha	Janeiro e Julho (2016)	EEP (2:15) Etanol 70% Ultrassom (35°C) - 1 hora	<i>Baccharis dracunculifolia</i>

ANDRADE <i>et al.</i> , 2018	Sergipe e Bahia – Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	Marrom, verde e vermelha	Julho (2016)	EEP (2:15) Etanol 70% Ultrassom - 1 hora (micropartículas)	-
ARANGUENA SALAZAR, 2019	Andahuaylas - Peru	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (3:10) Etanol 96° Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 48 horas	-
ARAÚJO <i>et al.</i> , 2020	Pará - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	-	Hexano Maceração - 48 horas (3x)	-
ARSLAN <i>et al.</i> , 2021	Ardahan e Erzurum - Turquia	<i>A. mellifera</i> <i>caucasica</i>	-	Outubro (2016)	EEP (1:50) Etanol 70% Ultrassom - 30 minutos	-
ARRUDA, 2019	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Vermelha	Março (2011) a fevereiro (2012)	EEP (1:15) Etanol 80% Maceração (3x)	<i>Dalbergia ecastapillum</i>
AUGUSTO-OBARA <i>et al.</i> , 2019	Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i> (africanizada)	Verde	Abril (2015)	EEP (2:25) Etanol 70% Maceração dinâmica (45 °C) - 20 minutos	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
BAKKALOGLU; ARICI; KARASU, 2021	Yeşilova-Denizli - Turquia	<i>A. mellifera</i>	-	-	Diversos (1:10) Etanol 70%, água destilada, DMSO e propilegonoglicol. Ultrassom (30, 45 e 60 °C) - 1, 2 e 3 minutos e	-

					Maceração dinâmica (20°C) - 24 horas	
BÉJI-SRAIRI <i>et al.</i> , 2020	Tebourba, Ain Haroun , Uthina e Djebel Boukornine - Tunísia	<i>A. mellifera</i>	-	Dezembro a março - Fim da época chuvosa	EEP (1:2) Etanol absoluto Maceração (4°C) – 72 horas	-
BHARGAVA <i>et al.</i> , 2014	Bangalore e Karnataka - Índia	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP Etanol 95% Maceração dinâmica (37°C) - 4 dias	-
BHUYAN <i>et al.</i> , 2021	Young, NSW e Ilha Kangaroo - Austrália, além de Brasil e China	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:2) Etanol absoluto Ultrassom (50°C) - 1 hora (2x) (para os testes antioxidantes) e, para composição química: (1:200) DMSO : acetonitrile : water (10 : 20 : 70) Ultrassom - 30 minutos	-
BONAMIGO <i>et al.</i> , 2017.	Mato Grosso do Sul - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	Várias estações de 2015	EEP (2:9) Etanol 80% Maceração (70°C)	-
BOUFADI <i>et al.</i> , 2014	Tigzirt, Ouled ali,	<i>A. mellifica</i> <i>intermissa</i> e <i>A.</i>	-	Primavera (2011)	EEP (1:10) Etanol 95% Ultrassom - 1,5 horas (3x)	-

	Ain El Arba, Yennarou, Ain ouassara e Ksar el hirane - Argélia	<i>mellifica</i> <i>sahariensis</i>				
BOULECHFAR <i>et al.</i> , 2019	Grarem - Argélia	<i>A. mellifera</i>	-	Abril (2015)	EMP (1:10) Metanol 80% Maceração - 72 horas (3x) e Óleo essencial Hidrodestilação (Clevenger) - 3 horas	-
CABRAL <i>et al.</i> , 2012	Bahia e Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Tipo 6 e tipo 12	Janeiro e fevereiro (2008)	EEP (2:15) Etanol 80% Maceração (70°C) - 30 minutos (2x)	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
CALEGARI <i>et al.</i> , 2017	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i> (africanizada)	-	Março a junho (2013) e março (2015)	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (70°C) - 45 minutos	-
CALEGARI, 2018	Paraná e Santa Catarina - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (45°C) - 45 minutos	-
CAO <i>et al.</i> , 2017	Shandong - China	<i>A. mellifera</i>	Álamo	Verão (2010)	EEP Etanol 95% Ultrassom (40°C) - 3 horas (3 vezes)	<i>Populus spp.</i>

CAPUCHO <i>et al.</i> , 2012	São Paulo - Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	Verde	Fevereiro (2010)	EAP (3:10) Água destilada Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 7 dias	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
CASTRO <i>et al.</i> , 2014	Santiago - Chile	<i>A. mellifera</i>	-	Primavera (2011)	EEP (4:10000) Etanol 90% Maceração (70°C) - 30 minutos (várias repetições)	-
CAVALARO, 2017 (1)*	Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i> (africanizada)	Verde	Novembro (2015)	EEP (1:10 a 1:30) Etanol 0 a 99% Ultrassom (25°C) - 5 a 45 minutos	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
CAVALARO, 2017 (2)*	Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i> (africanizada)	Verde	Novembro (2015)	EAP e EEP (1:20 a 1:50) Etanol 14,4; 49,5; 84,6; 99% Ultrassom - 20 minutos (emulsão)	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
CAVALARO; FABRICIO; VIEIRA, 2020	Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i> (africanizada)	Verde	Março (2018) - Época de floração	EEP (1:35) Etanol 99% Ultrassom (25°C) - 20 minutos	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
CÉCERE <i>et al.</i> , 2021	Santa Catarina - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	-	EAP (1:100) Água destilada Ultrassom - 3 horas, seguida de maceração - 3 horas	-
CEYLAN; HALIME, 2020	Anatolia - Turquia	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:10) Etanol 96% Maceração (37°C) - 5 dias	-

COELHO, 2013	Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	2010 e 2011	EEP Etanol 80% Maceração dinâmica (70°C) - 1 hora (2x)	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
COELHO <i>et al.</i> , 2017	Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	2010 e 2011	EEP (1:10) Etanol 80% Maceração (70°C) - 1 hora (2x)	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
CORREA <i>et al.</i> , 2016	Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	-	EEP Etanol absoluto Maceração (30°C) (1 e 2x)	<i>Baccharis dracunculifolia</i> , <i>Schinus terebenthifolius</i>
COTTICA <i>et al.</i> , 2011	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Orgânica	-	EEP (5% e 30%) Etanol 60 e 96% Extração a turbo - 15 minutos (spray dryer): Patente PI 0605768-3	-
CRUZ, 2011	Beira Interior - Portugal	<i>A. mellifera L.</i>	-	Agosto (2010)	EEP Etanol absoluto Maceração dinâmica (temperatura ambiente) (3x)	-
DA CRUZ ALMEIDA <i>et al.</i> , 2017	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Vermelha	Abril (2012)	EEP (5:12) Etanol 80% Maceração (3x) (microcápsulas)	-

DA CUNHA, 2017	Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	-	EEP (3:10) Etanol 80% Maceração dinâmica (50°C) - 30 minutos	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
DA GRAÇA MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	Fez-Boulemane, Taza, East, Khenifra, Rabat, Gharb, Tanger, Agadir - Marrocos	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:30) Etanol 70% Maceração dinâmica (37°C) - 96 horas	-
DA SILVA <i>et al.</i> , 2013	São Paulo - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	-	EEP (3:10) Etanol 80%GL Maceração dinâmica (50°C) - 30 minutos (adicionada a sistemas carreadores)	-
DA SILVA <i>et al.</i> , 2018	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (70°C) - 45 minutos	-
DA SILVEIRA <i>et al.</i> , 2016	Mato Grosso do Sul - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Amarela	Janeiro (2011)	EEP (1:10) Etanol absoluto Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 24 horas	-
DĂRĂBAN <i>et al.</i> , 2019	Arad e Bihor - Romênia	<i>A. mellifera L.</i>	-	-	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração - 48 horas	-

DE ALMEIDA, 2017	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Vermelha	-	EEP (2:7) Etanol 93% Maceração - 48 horas (2x) (microcápsulas)	<i>Dalbergia ecastapillum</i>
DE FRANCISCO <i>et al.</i> , 2018	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	-	-	EEP (3:7) Etanol absoluto Extração a turbo (100°C)	<i>Pinus sp.</i> , <i>Araucaria heterophylla</i> , <i>Eucalyptus sp.</i> , <i>Baccharis dracunculifolia</i>
DE LIMA <i>et al.</i> , 2019a	Minas Gerais – Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	Marrom	Junho (2017)	Óleo essencial Hidrodestilação (Clevenger) - 3 horas	-
DE LIMA <i>et al.</i> , 2019b	Santa Catarina - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	-	Óleo essencial (1:5) Etanol 96° Soxhlet - 5 horas	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
DEL RÍO DEL ROSAL <i>et al.</i> , 2017	Andalusia – Espanha e Třeboň - República Checa	<i>A. mellifera</i>	-	Agosto (2012), maio e dezembro (2015), fevereiro e maio (2016)	EEP (3:10) Etanol absoluto Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 10 dias	-
DE-MELO <i>et al.</i> , 2014	Bahia, Rio Grande do Norte, Maranhão, Paraíba, Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande	<i>A. mellifera</i> L.	-	2003 a 2005	EMP (1:50) Metanol absoluto Maceração dinâmica (60°C) - 1 hora (2x)	Solanaceae, <i>Borreria verticillata</i> , Arecaceae, Sapindaceae, <i>Mimosa verrucosa</i> , <i>Eucalyptus</i> , Asteraceae



	do Sul, Mato Grosso do Sul - Brasil					
DE MENDONÇA, 2014	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Vermelha	-	EEP (5:12) Etanol 80% Maceração dinâmica - 48 horas (gel de natrosol)	<i>Dalbergia ecastapillum</i>
DE MORAIS <i>et al.</i> , 2021	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera L.</i>	Vermelha	-	EEP (1:100) Etanol 60, 75 e 90% Maceração dinâmica (30, 55 e 80°C) - 30, 60 e 90 minutos	<i>Dalbergia ecastapillum</i> e <i>Symphonia globulifera</i>
DE OLIVEIRA, 2015	Zonas Norte, Centro e Ilha Terceira dos Açores - Portugal	<i>A. mellifera L.</i>	-	-	EEP (1:5) Etanol absoluto Maceração dinâmica (24°C) - 24 horas (2x)	-
DE OLIVEIRA; ANDOLFATTO, 2014	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i> geneticamente modificada	-	2013	EEP Etanol 50, 65 e 80% Maceração (30, 50 e 70°C) - 15,30 e 45 minutos	-
DE SOUZA <i>et al.</i> , 2018	Pará - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	-	Óleo essencial Hidrodestilação (Clevenger) - 3 horas e EEP Etanol absoluto Maceração (25°C) - 24 horas (3x)	-

DEVEQUI-NUNES <i>et al.</i> , 2018	Bahia - Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	Verde, marrom e vermelha	-	EEP (2:15) Etanol 80% Maceração dinâmica (70°C) - 30 minutos (2x) e Extração supercrítica com CO <sub>2</sub> , com co-solvente: etanol 1% (50°C) - 1 hora	<i>Baccharis dracunculifolia</i> , e <i>Dalbergia ecastopillum</i> (L.) <i>Taub.</i> (Fabaceae), e <i>Copaifera</i> spp.
DING <i>et al.</i> , 2021	Heilongjiang, Henan - China	<i>A. mellifera</i>	-	Abril, junho e agosto	EEP (1:20) Etanol 95% Ultrassom - 30 minutos (3x) E Extração convencional, nas mesmas condições e HS-SPME (para o CG/EM)	-
DO NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2016	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Vermelha	-	EEP (5:12) Etanol 80% Maceração dinâmica - 48 horas (nanopartículas); após descarte da cera, adicionou-se 600 mL de etanol 80% (agitação - 24 horas) (nanoartículas)	-

DO NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2019	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera</i> (africanizada)	Vermelha	-	EEP (3:10) Etanol absoluto (99°GL ) Maceração (temperatura ambiente) - 48 horas (3x - 7 dias) (microcápsulas)	<i>Dalbergia ecastopillum</i>
DUCA <i>et al.</i> , 2019	Bihor, Caras-Severin, Arad, Satu Mare, Timis - Romênia	<i>A. mellifera</i>	-	2015 e 2016	EEP (1:20) Etanol 60% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 1 hora	-
EL-GUENDOOUZ <i>et al.</i> , 2016	Diversas regiões do Marrocos	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:30) Etanol 70% Maceração dinâmica (37°C) - 7 dias	-
EL MENIY <i>et al.</i> , 2021	Diversas regiões do Marrocos	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 7 dias	-
EL SOHAIMI; MASRY, 2014	Região do delta médio – Egito; Anhui - China	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:10) Etanol 90% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 24 horas	-
ERTÜRK <i>et al.</i> , 2016	Rize - Turquia	<i>A. mellifera</i>	-	Outubro e novembro (2006)	EEP (1:5) Etanol 95% Maceração (4°C) - 7 dias	-

EZZAT <i>et al.</i> , 2019	Giza - Egito	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração (temperatura ambiente) – 14 dias	-
FALCÃO, 2013 (1) *	Várias regiões de Portugal continental, Arquipélago de Azores e Ilha Madeira	<i>A. mellifera L.</i>	-	-	EEP Etanol 80%	-
FALCÃO, 2013 (2) *	Nordeste de Portugal	<i>A. mellifera L.</i>	-	Outono (2007)	Metanol	<i>Populus x canadenses, Cistus ladanifer, Origanum spp.</i>
FALCÃO, 2013 (3) *	Várias regiões de Portugal	<i>A. mellifera L.</i>	-	Julho a setembro (2007-2009)	Óleo essencial Hidrodestilação Cleavenger - 3 horas	<i>Populus x canadenses, Cistus ladanifer</i>
FALCÃO, 2013 (4) *	Bragança - Portugal	<i>A. mellifera</i>	-	Primavera	Etanol absoluto	<i>Populus x canadenses, Cistus ladanifer</i>
FANGIO <i>et al.</i> , 2019	Buenos Aires - Argentina	<i>A. mellifera L.</i>	-	-	EEP (3:7) Etanol 70% Maceração (22–25°C) - 7 dias	-
FARIAS AZEVEDO <i>et al.</i> , 2018	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Vermelha	-	EEP (5:12) Etanol 80% Maceração dinâmica - 48 horas (3x) (nanopartículas)	-

FERREIRA <i>et al.</i> , 2017	Rio Grande do Norte - Brasil	<i>A. mellifera</i> L. (africanizada)	-	Junho e julho (2013) e fevereiro (2014) - Período de seca prolongada	Óleo essencial (1:15) Etanol absoluto Soxhlet - 6 horas	<i>Mimosa tenuiflora</i>
FIANCO, 2014	Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde e vermelha	Novembro (2011)	Extração supercrítica com CO <sub>2</sub> e EEP (1:1) Etanol 70% Maceração (25° C) - 14 dias (3x)	<i>Baccharis dracunculifolia</i> e <i>Dalbergia ecastapillum</i>
FERREIRA, 2015	Rio Grande do Norte - Brasil	<i>A. mellifera</i> L. (africanizada)	-	Junho (2013) a fevereiro (2014)	Óleo essencial (1:15) Etanol absoluto Soxhlet - 6 horas (2x)	-
FERREIRA, 2017	Rio Grande do Sul, Alagoas e Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i> (africanizada)	Âmbar, verde e vermelha	Março (2014) e setembro (2015)	EEP (1:10) Etanol absoluto Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 7 dias	<i>Baccharis dracunculifolia</i> , <i>Dalbergia ecastapillum</i> e <i>Eucalyptus sp.</i>
FERREIRA, 2019	Rio Grande do Norte - Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	Verde	Fevereiro (2014) e junho/julho (2013) – Seca prolongada	Óleo essencial (1:15) Etanol absoluto Soxhlet - 6 horas	<i>Mimosa tenuiflora</i>

GALEOTTI <i>et al.</i> , 2017	Zhejiang - China	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:100) Etanol absoluto-30% Ultrassom (10 minutos) e posterior maceração dinâmica (70°C) - 2 horas	-
GARGOURI <i>et al.</i> , 2019	Kasserine, Béja, El Kef e Monastir - Tunísia	<i>A. mellifera</i> L.	-	-	Óleo essencial (1:50) Etanol 80% Reator de vidro (40°C) - 3 horas e EEP (2:15) Etanol 80% Ultrassom - 20 minutos (3x)	-
GOKDUMAN, 2019	Central Anatólia - Turquia	<i>A. mellifera</i> L.	-	-	EEP (1:20) Etanol absoluto Maceração dinâmica (60°C) - 24 horas	-
GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011	Minas gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	-	Óleo essencial (1:20) Etanol absoluto Soxhlet - 24 horas	-
GRAIKOU <i>et al.</i> , 2016	Várias regiões da Grécia, Ilhas do Mar Egeu, Chipre, Croácia e Argélia	<i>A. mellifera</i> L.	-	Primavera a verão (2008 a 2011)	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração (temperatura ambiente) - 24 horas	<i>Pinus</i> sp., <i>Cupressus sempervirens</i> , <i>Populus nigra</i>

GUO <i>et al.</i> , 2011	Várias regiões da China	<i>A. mellifera L.</i>	-	-	EAP (1:5) Água destilada Maceração (60°C) - 7 horas (2x)	-
HAMES-KOCABAS <i>ET AL.</i> , 2013	Nordeste de Anatólia - Turquia	<i>A. mellifera L.</i>	-	Primavera (2011)	EEP (1:5) Etanol 96% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 18 horas e Óleo essencial (HS-SPME)	-
IKEDA, 2020	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera L.</i>	Orgânica	-	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração dinâmica (70°C) - 30 minutos e Óleo essencial Hidrodestilação (Cleavenger) - 4 horas	-
JANSEN, 2015	Rio Grande do Sul - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	Setembro a novembro (2013) – Primavera	EEP (1:10) Etanol 80% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 3 horas	-
JEONG <i>et al.</i> , 2012	Gyeongnam - Coreia	<i>A. mellifera</i>	-	-	EAP (1:10) Decocção (100°C) - 2 horas	-

JIANG <i>et al.</i> , 2020	Várias regiões da China	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (3:50) Etanol 95% Ultrassom - 45 minutos (3x)	-
JUG; KONČIĆ; KOSALEC, 2014	Zagreb - Croácia	<i>A. mellifera</i> L.	Álamo	2010	EEP e EAP (1:5) Água pura, Etanol 40 e 80% Maceração dinâmica (25-50°C) - 24 horas e EEP e EAP (1:5) Água pura, Etanol 40 e 80% Ultrassom (banho de gelo) - 30 minutos	<i>Populus</i> sp.
KARADAL <i>et al.</i> , 2018	Central Anatólia - Turquia	<i>A. mellifera anatoliaca</i>	-	-	EEP (3:10) Etanol 70% Maceração (70°C) – 7 dias	-
KASOTE <i>et al.</i> , 2017	Trezes regiões da Índia	<i>A. mellifera</i>	-	Junho a Outubro (2016)	EEP (1:10) Etanol absoluto Maceração	-
KIZILTAS; ERKAN, 2020	Turquia	<i>A. mellifera caucasica</i>	-	Junho a outubro	EEP (3:50) Etanol 98% Maceração dinâmica (25°C) - 48 horas	-
KUMAR <i>et al.</i> , 2011	Tamilnadu - Índia	<i>A. mellifera</i>	-	Dezembro (2009)	EEP (1:10) Etanol 80% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) – 72 horas	-



KUMAZAWA <i>et al.</i> , 2013	Andalusia - Espanha	<i>A. mellifera</i> L.	-	Primavera a Inverno (2006- 2007)	EEP (1:30) Etanol absoluto Maceração (temperatura ambiente) - 24 horas	<i>Castanea sativa</i> , <i>Quercus</i> sp, <i>Populus</i> sp, <i>Eucalyptus</i> sp, <i>Salix</i> sp, <i>Pinus</i> sp.
KUMUL <i>et al.</i> , 2020	Yucatán - México	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (3:10) Etanol 95% Maceração (25°C) - 28 dias	-
KUNRATH <i>et al.</i> , 2017	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	-	Agosto (2014)	EEP (1:10) Etanol 70% Extração a turbo (spray dryer)	-
KUNRATH; SAVOLDI, 2014	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	-	-	EEP (1:9) Etanol 70% Maceração - 48 horas, com extração a turbo - 15 minutos, entre os dois dias de extração (spray dryer)	-
KUREK-GÓRECKA <i>et al.</i> , 2012	Kamianna - Polônia	<i>A. mellifera</i>	-	Verão (2006)	EEP (1:10) Etanol 35% Maceração – 14 dias	-
LACERDA, 2012	Paraná e Santa Catarina - Brasil	<i>Apis mellifera</i>	Orgânica	Fevereiro e março (2011 - verão), dezembro e janeiro (2012 - verão), outono e primavera (2011)	EEP (2:25) Etanol 80% Ultrassom - 15 minutos e Extração HS-SPME (para CG/EM)	<i>Baccharis dracunculifolia</i>

LABYAD <i>et al.</i> , 2016	Tarhona - Líbia	<i>A. mellifera</i>	-	Primavera (2014)	EEP (1:5) Etanol absoluto Maceração - 7 dias	-
LUIS-VILLAROYA <i>et al.</i> , 2015	Zaragoza - Espanha	<i>A. mellifera</i> L.	-	-	Propilenoglicol Maceração (36°C) - 48 horas (suplemento diário)	<i>Populus</i> spp., <i>Quercus</i> spp., <i>Pinus</i> spp.
MACHADO <i>et al.</i> , 2016	Sergipe, Alagoas, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde, marrom e vermelha	Julho a setembro (2013)	Extração supercrítica com CO <sub>2</sub> , com co-solvente: etanol 1% (50°C) - 2,5 horas e EEP (2:15) Etanol 80% Maceração dinâmica (70°C) - 30 minutos	<i>Baccharis dracunculifolia</i> , <i>Dalbergia ecastopillum</i> , <i>Copaifera</i>
MARCUSSI; GUTIERREZ-GONÇALVES, 2013	Ceará - Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	-	-	Óleo essencial (4:125) Etanol absoluto Soxhlet	-
MASEK <i>et al.</i> , 2019	Várias regiões da Polônia	<i>A. mellifera</i> L.	-	2016	EEP (1:5) Etanol 70% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 7 dias	-
MELLO; HUBINGER, 2012	São Paulo - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	-	EEP e EAP (1:8) Etanol 80% e Água deionizada Maceração (temperatura	<i>Baccharis dracunculifolia</i>

					ambiente) - 2 horas, 1 - 10 dias (pH 2,0-8,0)	
MENDEZ-PFEIFFER <i>et al.</i> , 2020	Sonora - México	<i>A. mellifera</i>	-	Inverno (2014) a primavera (2015)	EMP (1:5) Metanol absoluto Maceração – 72 horas	<i>Ambrosia deltoidea</i> , <i>Encelia farinosa</i> , <i>P. fremontii</i>
MIGUEL <i>et al.</i> , 2014	Algarve - Portugal	<i>A. mellifera</i> L.	-	Inverno e Primavera (2008 e 2009)	EAP (1:10) Maceração (80 °C) – 3 horas	-
MOHDALY <i>et al.</i> , 2015	Fayoum - Egito	<i>A. mellifera</i>	-	-	EMP (1:10) Metanol absoluto Maceração (25°C) - <i>overnight</i>	-
MOLNÁR <i>et al.</i> , 2017	Debrecen Domsod, Esztergom, Szarvas, Kecskemét, Pusztaszabolcs, Berettióújfalu, Puspokladáni, Eger e Mezokovesd - Hungria	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:5) Etanol 80% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 24 horas	-
MONCAYO LUJÁN <i>et al.</i> , 2018	Coahuila e Durango - México	<i>A. mellifera</i> L.	-	-	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração dinâmica (35°C) - 48 horas	-

					e EEP (1:10) Etanol 70% Ultrassom (30°C) - 30 minutos	
					e EEP (4:63) Etanol 70% Microondas (70°C) - 17 minutos	
MOUHOUBI- TAFININE; OUCHEMOUKH; TAMENDJARI, 2016	Adekar e Oued ghir - Argélia	<i>A. mellifera</i>	-	Julho (2007)	Solventes diversos (1:40) Água, Etanol 50% e 85%, Metanol 50% Maceração dinâmica (temperatura ambiente 25–30 °C) - 15 horas	-
NAIK; VAIDYA, 2011	Maharashtra - India	<i>A. mellifera</i>	-	-	Óleo essencial (5:28) Hidrodestilação (Clevenger)	-
NINA <i>et al.</i> , 2015	Região do Maule - Chile	<i>A. mellifera</i>	-	2012 - 2014	EMP (1:10) Metanol absoluto Ultrassom (temperatura ambiente) - 3 minutos (2x)	-
NINA <i>et al.</i> , 2016	La Paz, Cochabamba, Chuquisaca, Tarija,	<i>A. mellifera</i>	-	2013 - 2014	EMP (1:10) Metanol absoluto Maceração	-

	Santa Cruz, Okinawa - Bolívia				(temperatura ambiente) (3x)	
NORI <i>et al.</i> , 2011	São Paulo - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Tipo 12	-	EEP (3:10) Etanol 80% Maceração dinâmica (50°C) - 30 minutos (microcápsulas)	-
OLDONI <i>et al.</i> , 2015	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i> L. (africanizada)	-	Março a Agosto (2013)	EEP Etanol 50, 65 e 80% Maceração (30, 50 e 70°C) - 15, 30 e 45 minutos	-
OSÉS <i>et al.</i> , 2016	Espanha	<i>A. mellifera</i>	-	2014	EEP (4:15) Etanol 90% Qualidade alimentar Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 48 horas	-
OSÉS <i>et al.</i> , 2020	Sul de zonas tropicais da América e países do sudoeste e sudeste europeu	<i>A. mellifera</i>	-	2015	EEP (1:30) Etanol 70% (qualidade alimentar) Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 24 horas (várias vezes)	-
OZDAL <i>et al.</i> , 2018	Várias regiões da Turquia	<i>A. mellifera</i> L.	-	-	EEP (1:10) Etanol 70% Ultrassom (temperatura ambiente) - 30 minutos	-

OZDAL <i>et al.</i> , 2019	Ankara, Central Anatolia, Anatolia oriental, oeste do Mediterrâneo e Marmara - Turquia	<i>A. mellifera L.</i>	-	Abril a julho (2014)	EEP (1:15) Etanol 70% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 24 horas e EEP (1:10) Etanol absoluto Maceração dinâmica (25-30°C) – 72 horas (para análise em cromatografia)	-
ÖZKÖK <i>et al.</i> , 2021	Várias regiões da Turquia	<i>A. mellifera L.</i>	-	Final do verão (2019)	EEP (1:30) Etanol 70% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 24 horas (2x)	-
PANDOLFO, 2014	Sul do Paraná e norte de Santa Catarina - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Orgânica	Verão e outono (2012 e 2013)	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (70°C) - 30 minutos	Araucária, pinus e eucalipto
PAZIN <i>et al.</i> , 2017	Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i> (africanizada)	Verde	Março (2012)	EEP (3:10) Etanol 70% Maceração - 2 meses	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
PEIXOTO <i>et al.</i> , 2021	Gerês - Portugal	<i>A. mellifera L.</i>	-	Agosto e setembro (2011- 2015)	EEP (3:20) Etanol absoluto Maceração	-

					dinâmica (temperatura ambiente) - 24 horas	
PERMANA <i>et al.</i> , 2020	Sulawesi - Indonésia	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:2) Etanol 25, 50, 75 e 100% Ultrassom (temperatura ambiente) - 24 horas (nanocarreador: fitossoma)	-
PRASNIEWSKI, 2015	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	Março a agosto (2013)	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (70°C) - 45 minutos	-
QUINTINO <i>et al.</i> , 2020	Minas Gerais - Brasil	<i>A. mellifera</i> L.	Verde	Junho (2017)	Óleo essencial Hidrodestilação (1:5) (Clevenger) - 3 horas	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
RAMNATH; VENKATARAMEGO WDA, 2016	Haryana, Himachal Pradesh, Uttaranchal, Punjab, Delhi, Maharashtra, Tamil Nadu, Karnataka, Kerala e Andhra Pradesh - India	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - <i>overnight</i> (3x)	-
RIGHI <i>et al.</i> , 2011	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Vermelha	-	Óleo essencial Metanol absoluto Soxhlet; e para análises cromatográficas,	-

					partição no Soxhlet com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol	
IRIGOITI; YAMUL; NAVARRO, 2021	Buenos Aires - Argentina	<i>A. mellifera</i> L.	-	-	EEP (1:9) Etanol 96° Maceração (40°C) – 72 horas (pó co-cristalizado com sucrose)	-
RISTIVOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2018	Várias regiões da Turquia	<i>A. mellifera</i> L.	Subtipos de própolis Álamo	-	EEP (1:10) Etanol 80% Ultrassom - 45 minutos	<i>Populus</i> spp.
RISTIVOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2020	Sérvia, Turquia, China e Rússia	<i>A. mellifera</i> L.	Álamo	Início e final da primavera e início do verão	EEP (1:10) Etanol 80% Ultrassom - 30 minutos	<i>Populus nigra</i> L.
RIVERA-YAÑEZ <i>et al.</i> , 2018	Chihuahua - México	<i>A. mellifera</i>	-	Novembro (2014)	EEP (3:10) Etanol 70% Maceração (temperatura ambiente)	-
ROCHA <i>et al.</i> , 2013	Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná, e Santa Catarina - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	-	EEP Etanol 70% Maceração dinâmica, seguida de percolação	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2012	Sabanalarga, Galapa, Juan de Acosta e	<i>A. mellifera</i> (africanizada)	-	Segundo trimestre (2019) - Período de seca	EEP (3:10) Etanol 96% Maceração (temperatura ambiente) - 48 horas (3x)	-



	Santo Tomás - Colômbia					
RODRÍGUEZ PÉREZ <i>et al.</i> , 2020	Estado do México, Michoacán, Guanajuato, Puebla, e Veracruz - México	<i>A. mellifera</i>	-	Novembro (2010), setembro e novembro (2012), abril, maio e setembro (2013)	EEP (1:3) Etanol 70% Ultrassom	-
SALAS <i>et al.</i> , 2016	Tucuman - Argentina	<i>A. mellifera L.</i>	-	Dezembro (2012) e Março (2013) – Final da primavera e início do verão	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (temperatura ambiente) - 7 dias	<i>Zuccagnia punctata</i>
SALAS <i>et al.</i> , 2020	Catamarca - Argentina	<i>A. mellifera</i>	Tipo Zuccagnia	2015 - 2018	EEP (2:25) Etanol 80% Ultrassom - 30 minutos	<i>Z. punctata</i> , <i>Larrea</i> sp.
SALAS <i>et al.</i> , 2018	Tucumán - Argentina	<i>A. mellifera</i>	Tipo Zuccagnia	Dezembro (2012)	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (temperatura ambiente) - 7 dias (formulação otológica)	<i>Zuccagnia punctata</i>
SALGUEIRO, 2016	Rio de Janeiro - Brasil	<i>A. mellifera</i> Lineau (africanizada)	Verde	Julho (2010), janeiro a novembro (2012)	EEP e EMP (1:25) Etanol 95% e Metanol 95% Maceração dinâmica	<i>Baccharis dracunculifolia L.</i>

					(temperatura ambiente) - 48 horas e Óleo essencial (1:80) Metanol absoluto Soxhlet - 5 horas	
SALEH, 2012	Fayoum - Egito	<i>A. mellifera carnica</i>	-	-	EAP Água destilada (aquecido suavemente) Maceração	-
SALGUEIRO; CASTRO, 2016	Rio de Janeiro - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	Julho (2010), março a novembro (2012)	EEP (1:25) Etanol 95% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 48 horas	-
SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2020	Noroeste do México	<i>A. mellifera</i>	-	Inverno e verão (2012 e 2013)	EEP (1:10) Etanol absoluto Maceração dinâmica (temperatura ambiente - 25°C) – 72 horas	-
SANPA <i>et al.</i> , 2017	Chiang Rai, Lamphun, Nan, Phayao, Phrae – Tailândia	<i>A. mellifera</i>	-	Janeiro (2009) a Janeiro (2010)	EEP (1:10) Etanol 70% Ultrassom (temperatura ambiente) - 30 minutos; e para análise no CG/EM: EEP (1:10) Etanol 70%	<i>Mangifera indica</i>

					Maceração (temperatura ambiente) - 24 horas (3x)	
SARAL <i>et al.</i> , 2019	Thrace, Anatólia e Camili - Turquia	<i>A. mellifera carnica</i> , <i>A. mellifera anatoliaca</i> , <i>A. mellifera syriaca</i> , <i>A. mellifera caucasica</i>	-	Agosto (2017)	EMP Metanol absoluto Maceração (temperatura ambiente) - 24 horas	-
SCHMIDT <i>et al.</i> , 2014a	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	Janeiro e maio (2009)	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 100 horas	-
SCHMIDT <i>et al.</i> , 2014b	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	Novembro (2008)	EEP e EAP (3:15) Água e Etanol 30, 70 e 95% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 100 horas	-
SHAHBAZ <i>et al.</i> , 2021	Faisalabad - Paquistão	<i>A. mellifera L.</i>	-	-	EAP, EEP e EMP Água, metanol 65, 80 e 95% e etanol 65, 80 e 95% Maceração dinâmica	-

					(temperatura ambiente) - 24 horas	
SHEHATA <i>et al.</i> , 2020	Egito, Brasil, Bulgária, Oman, Arábia Saudita, e China	<i>A. mellifera L.</i>	Verde e marrom	Outono e primavera	EEP (1:10) Etanol absoluto Maceração (temperatura ambiente 23°C) - 6 horas	-
SHUBHARANI; MAHESH; YOGANANDA MURTI, 2019	Haryana, Himachal Pradesh, Uttaranchal, Karnataka e Kerala - India	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP Etanol 70% Maceração (nanopartículas)	-
SILVA <i>et al.</i> , 2011	Sul do Uruguai	<i>A. mellifera</i>	-	Final da primavera e início do verão	EEP (1:10) Etanol 75% Maceração dinâmica (50- 60°C) - 30 minutos (2x)	-
SILVA <i>et al.</i> , 2018	Alagoas - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Vermelha	-	EEP Maceração Etanol absoluto (temperatura ambiente) - 72 horas	<i>Dalbergia ecastopillum</i>
SIME <i>et al.</i> , 2015	Agarfa, Alage, Wolaita, Holeta e Gedo - Etiópia	<i>A. mellifera</i>	-	Junho e julho (2011)	EEP (1:5) Etanol 70% Maceração - 20 dias	-
SOUSA <i>et al.</i> , 2019	Paraná - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Marrom	Novembro (2013)	EEP (1:25) Etanol 95% Maceração dinâmica	-

					(temperatura ambiente) - 48 horas	
SULAIMAN <i>et al.</i> , 2011	Baghdad, Dahuk, Mosul e Salah ad-Din - Iraque	<i>A. mellifera</i>	-	2007-2008	EMP (1:10) Metanol absoluto Maceração dinâmica (60°C) - 1 hora (3x)	<i>Cedrus libani</i> , <i>Abies cillicica</i> , <i>Betula alba</i> , <i>Robinia pseudoacacia</i> , <i>Cupressus sempervirens</i> , <i>Melia azedorach</i> , <i>Tamarix articulata</i> , <i>Acacia spp.</i> , <i>Eucalyptus spp.</i> , <i>Alnus spp.</i> , <i>Pinus spp.</i> , álamos e carvalhos
SUN <i>ET AL.</i> , 2015	Beijing - China	<i>A. mellifera</i> L.	Álamo	-	EAP (1:20) EEP (1:20) Etanol 5,50,75,95,100% Ultrasom (40°C) - 5 horas	<i>Poppulus spp.</i>
SVEČNJAK <i>et al.</i> , 2020	Krk, Rab, Pag, Biševo e Korcula - Croácia	<i>A. mellifera carnica</i> Pollmann	Mediterrânea	2017	HS-SPME (60°C) - 45 minutos (para CG/EM) e Óleo essencial Hidrodestilação (10:1) Clevenger Pentadieno:dietil éter (1:2) - 2 horas (para CG/EM) e	<i>Cupressus spp.</i> , <i>Juniperus spp.</i> , <i>Poplar spp.</i> , <i>Cistus spp.</i>

					EEP (1:10) Etanol 70% Ultrassom (40°C) - 45 minutos	
TIVERON, 2015	Paraná e Santa Catarina - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Orgânica	Fevereiro a junho, e dezembro; (2011) e janeiro (2012)	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (70°C) - 30 minutos (microcápsulas)	-
TIVERON <i>et al.</i> , 2016	Santa Catarina - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Orgânica	Fevereiro (2011) a janeiro (2012)	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração dinâmica (70°C) - 30 minutos	-
TOHAMY <i>et al.</i> , 2014	Beni-Suef - Egito	<i>A. mellifera</i>	-	-	EAP (1:250) Água destilada Maceração dinâmica - 10 minutos	-
TORETI, 2011	São Paulo - Brasil	<i>A. mellifera</i>	Verde	Janeiro a dezembro (2009 e 2010)	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (70°C) - 30 minutos	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
TOUZANI <i>et al.</i> , 2018	Várias regiões do Marrocos	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 7 dias	-
VALENTE <i>et al.</i> , 2011	Beira Interior - Portugal	<i>A. mellifera</i>	-	Setembro (2007)	EMP (1:1) Metanol absoluto Maceração	-

					dinâmica (temperatura ambiente) - <i>overnight</i>	
VARGAS-SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2019	Noroeste do México	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:10) Etanol absoluto Maceração (temperatura ambiente - 25°C) - 72 horas	-
VARGAS-SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2020	Sonora - México	<i>A. mellifera</i>	-	Verão e inverno (2017)		-
VARGAS TAPIA, 2018	Tacna, Arequipa e Lambayeque - Peru	<i>A. mellifera</i>	-	Novembro (2013)	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (70°C) - 30 minutos	<i>Baccharis tricuneata, Alnus acuminata</i>
VENEGAS <i>et al.</i> , 2016	Biobío e Araucanía - Chile	<i>A. mellifera</i>	-	-	EMP (1:50) Metanol absoluto	-
WALI <i>et al.</i> , 2016	Jammu e Kashmir - India	<i>A. mellifera</i>	-	-	EEP (1:5) Etanol absoluto Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 24 horas (3x) e EEP (1:5) Etanol 50% Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 48 horas (3x) e	-

					EAP (1:5) Água MilliQ Maceração dinâmica (temperatura ambiente) - 48 horas	
WANG <i>et al.</i> , 2016	Coreia do Sul, Brasil, China e Austrália	<i>A. mellifera L.</i>	-	-	EEP Etanol absoluto Maceração (temperatura ambiente) - 24 horas	-
WIWEKOWATI <i>et al.</i> , 2020	Yogyakarta - Indonésia	<i>A. mellifera sp</i>	-	-	EEP Etanol 96% Maceração - 24 horas	-
WIWEKOWATI <i>et al.</i> , 2017	Central Java - Indonésia	<i>A. mellifera sp</i>	-	-	EEP Etanol 96% Maceração - 24 horas	-
XAVIER <i>et al.</i> , 2017	Bahia - Brasil	<i>A. mellifera</i>	-	Maio (2014)	EEP (2:25) Etanol 80% Maceração (70°C) - 30 minutos e HS-SPME (40°C) - 2 horas (para o CG/EM)	-
YONAR <i>et al.</i> , 2012	Central Anatolia - Turquia	<i>A. mellifera</i> <i>caucasica</i>	Álamo	-	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração (temperatura ambiente) - 24 horas	-
YONAR <i>et al.</i> , 2014	Central Anatolia - Turquia	<i>A. mellifera</i> <i>caucasica</i>	Álamo	-	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração (temperatura ambiente) - 24 horas	-



YONAR <i>et al.</i> , 2017	Central Anatolia - Turquia	<i>A. mellifera</i> <i>caucasica</i>	Álamo	-	EEP (1:10) Etanol 70% Maceração (temperatura ambiente) - 24 horas	-
YUAN <i>et al.</i> , 2020	Brasil e China	<i>A. mellifera</i>	Álamo e verde	Verão (2017)	EMP (1:50) Metanol absoluto Ultrassom - 1 hora (2x) e EEP (1:20) Etanol 95% Ultrassom - 1 hora (2x)	Álamo, <i>Baccharis</i>
YURTERI, 2015	Ankara Mamak - Turquia	<i>A. mellifera</i>	-	Agosto (2014)	EEP (1:20) Etanol 70% Maceração dinâmica - 10 dias; o mesmo foi realizado novamente, mas apenas por 2 dias	-
ZEITOUN <i>et al.</i> , 2019	Costa Sul - Líbano	<i>A. mellifera</i> L.	-	Junho a agosto (2014)	EEP (1:5) Etanol 70% Maceração dinâmica (30°C) - 7 dias	-
ZHANG <i>et al.</i> , 2015	Shandong - China	<i>A. mellifera</i>	Álamo	-	EEP Etanol 95% Ultrassom (40°C) - 3 horas (3x)	<i>Poppulus sp.</i>
ZHANG <i>et al.</i> , 2016	Shandong e Nanjing - China; e sul da Austrália	<i>A. mellifera</i>	Álamo, verde e de eucalipto	-	EEP (1:4) Etanol 95% Ultrassom (40°C) - 3 horas (3x)	<i>Poppulus sp.</i> , <i>Baccharis sp.</i> , Eucalipto.

---

ŽIŽIĆ <i>et al.</i> , 2013	Mrckovina, Babine, Miljevici, Jabuka, Velika Zupa, Zalug, e Kacevo - Sérvia	<i>A. mellifera</i>	-	Verão (2011)	EEP (1:20) Etanol 96% Macerção dinâmica (temperatura ambiente) - 24 horas	-
----------------------------	--	---------------------	---	--------------	--	---

---

\*Tese com vários trabalhos internos.