

# Fatores de heterogeneidade do potencial antioxidante da própolis da abelha *Apis mellifera*: uma revisão

*Heterogeneity factors of the antioxidant potential of propolis from the bee *Apis mellifera*: a review*

Recebido em: 10/03/2021

Aceito em: 22/03/2022

**Fernanda Baldomir da CRUZ; Diegue Henrique Nascimento MARTINS; Juliana de Freitas FERREIRA; Pérola de Oliveira MAGALHÃES; Dâmaris SILVEIRA; Yris Maria FONSECA-BAZZO**

*Laboratório de Produtos Naturais (LaProNat), Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte. CEP 70910-900. Brasília, Brasil.  
E-mail: yrisfonseca@unb.br*

## ABSTRACT

Bees produce propolis from balsamic materials collected from plants. It is a natural product with several functions within the hive. Currently, science has already proven several biological actions of this material, such as antioxidant. However, there are still challenges regarding the standardization of collection techniques, sample preparation, analysis, and quality control, making it difficult for the industry to use propolis. This review investigated the possible heterogeneity factors of the antioxidant potential of propolis, considering the entire process of obtaining, from the origin of the hives to the forms of extraction of propolis from the *Apis mellifera* bee. The search for this review was carried out in the following databases and search tools: SciELO, Google Scholar, PubMed, MEDLINE, Catalog of Dissertations and Theses from CAPES, BVS, CRD, Embase, Science Direct, Scopus, and Cochrane Library. Publications in Portuguese, English, and Spanish (2011 to 2021) were included. A total of 173 studies were obtained that proved the important antioxidant activity of the propolis extract of *A. mellifera*. However, the numerical results of antioxidant potential differed greatly from each other. The main heterogeneity factors found in the methodologies were: place and time of collection (seasonality), bee race, type of propolis or its botanical source, and extract preparation (solvent, extraction time, and methodology).

**Keywords:** *Apis mellifera*; propolis; antioxidant activity; heterogeneity factors..

## RESUMO

As abelhas produzem a própolis a partir de materiais balsâmicos coletados das plantas. Trata-se de um produto natural com diversas funções dentro da colmeia. Atualmente, a ciência já comprovou várias ações biológicas desse material, tal como antioxidante. Porém, ainda há desafios no que concerne a padronização de técnicas de coleta, preparo da amostra, análises, controle de qualidade, dentre outros, dificultando o uso da própolis pela indústria. Essa revisão investigou os possíveis fatores de heterogeneidade do potencial

antioxidante da própolis, considerando todo o processo de obtenção, desde origem das colmeias até formas de extração da própolis de abelha *Apis mellifera*. A busca desta revisão foi realizada nas seguintes bases de dados e ferramentas de busca: SciELO, Google Acadêmico, PubMed, MEDLINE, Catálogo de Dissertações e Teses da CAPES, BVS, CRD, Embase, Science Direct, Scopus e Cochrane Library. Foram incluídas publicações em português, inglês e espanhol (2011 a 2021). Foram obtidos 173 trabalhos que comprovaram importante atividade antioxidante do extrato de própolis de *A. mellifera*. Porém, os resultados numéricos de potencial antioxidante diferiram muito entre si. Os principais fatores de heterogeneidade encontrados nas metodologias foram: local e época de coleta (sazonalidade), raça da abelha, tipo de própolis ou sua fonte botânica, e preparo do extrato (solvente, tempo e metodologia de extração).

**Palavras-chave:** *Apis mellifera*; própolis; atividade antioxidante; fatores de heterogeneidade.

## INTRODUÇÃO

Própolis é o conjunto de substâncias balsâmicas provenientes de resinas de diversas partes das plantas e exsudatos vegetais coletadas por abelhas operárias (*Apis mellifera* e abelhas sem ferrão - *Meliponini*) (1-5). Vale destacar que grande parte das substâncias com atividade biológica que constituem a própolis advém de plantas (6). Para a produção da própolis, as abelhas misturam estas substâncias balsâmicas com pólen, néctar, ceras, ácidos graxos poli-insaturados (7-10) e enzimas salivares. Como exemplo dessas enzimas, a  $\beta$ -glicosidase (2-4,7,11,12) e outras enzimas são responsáveis pela hidrólise de flavonoides glicosilados a agliconas (flavonas e flavanonas) (13,14).

Em relação a suas propriedades físico-químicas, a própolis apresenta aspecto duro e quebradiço em temperaturas mais baixas (15°C). No entanto, em temperaturas mais altas (cerca de 30°C) apresenta-se como material macio e maleável. Em temperaturas superiores, entre 35°C e 60°C, se torna uma substância viscosa. Vale destacar ainda que se trata de um material extremamente lipofílico (15).

O Brasil é um importante produtor de própolis durante todo o ano, com atividades apícolas em todo o território, o que gera fonte de renda para muitas famílias. Seu alto valor comercial, com imensa valorização é ponto de destaque. Em 2010, o quilo de própolis custava US\$ 84,87, saltando para US\$ 129,47 em dois anos (2). Estima-se que o mercado de própolis atinja US\$ 799 milhões em 2028, com CAGR (*Compound Annual Growth Rate*) de 6,0 % (16). Soma-se a

esses benefícios, ainda, o fato da própolis possuir *status GRAS* (*Generally Recognized as Safe*) (17).

Diversas indústrias farmacêuticas e alimentícias têm voltado o seu olhar para esse produto, buscando alternativas naturais para os compostos sintéticos geralmente utilizados em sua formulação, o que vem sendo uma tendência mundial, dada a maior procura de produtos ditos orgânicos, “verdes” e naturais pelos consumidores (17). Pode ser citada a procura por antioxidantes naturais, em substituição aos sintéticos, já que alguns deles são associados com riscos à saúde (2,18).

Não obstante, a grande barreira que a indústria e os pesquisadores de todas as áreas encontram é a grande variação que as amostras de própolis apresentam ao redor do mundo, dificultando a padronização de metodologias e técnicas que garantam qualidade, segurança e eficácia de produtos contendo própolis. Diz-se que ela é o produto natural mais heterogêneo encontrado no ambiente (19).

A composição química da própolis varia enormemente de acordo com as espécies vegetais disponíveis na região (2,18). Além disso, outros fatores podem influenciar nesse quesito, como a espécie e raça da abelha (20), perfil genético da rainha (3,6), outros componentes misturados a própolis, umidade, altitude (21), sazonalidade (2). Soma-se a isso, ainda, as diferenças na forma de coleta, preparo de extrato e análise, dificultando ainda mais a comparação entre o grande volume de estudos contendo própolis e formulação de técnicas unificadas.

Uma possível padronização do processo de obtenção da própolis, considerando toda a cadeia produtiva, pode possibilitar um aumento do valor econômico da própolis, potencializando nova fonte de moléculas bioativas (22,23). A presente revisão bibliográfica teve como objetivo a investigação dos fatores de variação da atividade antioxidante de extrato de própolis da abelha de *A. mellifera*.

## MÉTODO

**Critérios de inclusão.** Foram elegíveis artigos, teses e dissertações experimentais (*in vitro* e *in vivo*), cuja metodologia abrangeu testes de avaliação da atividade antioxidante de extratos de própolis da abelha *Apis mellifera*.

**Critérios de exclusão.** Os materiais bibliográficos com as seguintes características foram excluídos: 1) estudos que não foram publicados entre os anos de 2011 a 2021; 2) estudos em formato de revisões, livros, capítulos, resumos e pôsteres de congresso, cartas, e artigos de opinião; 3) estudos redigidos em outros idiomas diferentes de português, inglês e espanhol; 4) estudos sem metodologias de avaliação da atividade antioxidantes; 5) estudos que não analisaram a própolis; 6) estudos sem a informação da espécie de abelha produtora da própolis; 7) estudos que optaram por outras espécies de abelhas, com exceção da *Apis mellifera*; 8) estudos sem informações do método de preparo do extrato ou o local de coleta da própolis; 9) estudos que particionaram o extrato bruto, isolaram substâncias, ou fizeram uso de coprodutos/resíduos; 10) estudos que associaram a própolis a outras substâncias.

**Fontes de informações e estratégias de busca.** A busca da presente revisão foi realizada nas seguintes bases de dados e ferramentas de busca: 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. Duas buscas (uma na língua portuguesa e outra, em inglês) foram feitas, com critério de exclusão por data já

inserido; artigos em espanhol que eventualmente apareceram nas buscas foram aceitos, porém nenhum descritor em espanhol específico foi usado. Os termos de busca foram submetidos à consulta aos descritores em saúde (DeCS - Descritores em Ciências da Saúde), bem como busca MESH. Os termos “*Apis mellifera*” e “propolis” foram identificados. O descritor “atividade antioxidante” é citado como um termo alternativo à palavra “antioxidantes”. A estratégia de busca em cada base de dados e informações sobre as amostras e referência completa dos 173 artigos utilizados nesta revisão foram detalhadas por Cruz e cols. (2022) (24).

**Seleção de estudos.** Inicialmente, foi realizada busca de acordo com os termos adaptados a cada base de dados. Na segunda etapa, as referências encontradas foram adicionadas ao EndNote Web, um programa de gerenciamento de citações *online*, cuja função principal foi a remoção de duplicatas. A terceira etapa consistiu na leitura de título e resumo, com remoção de trabalhos que não respeitavam os critérios anteriormente estabelecidos. Finalmente, na quarta etapa, as referências restantes foram lidas integralmente, realizando nova exclusão.

Foram extraídas informações dos materiais que compõem o acervo final dessa revisão, que estavam diretamente ligadas a heterogeneidade da própolis: tipo de própolis usada, época e local da coleta, espécie e nomenclatura da abelha, metodologia de extração, tipo de método usado para avaliar a atividade antioxidante, e fonte vegetal da própolis.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira fase, um total de 1.765 publicações foram identificadas, no período de 01 de janeiro de 2011 até o dia 29 de abril de 2021. A exclusão por meio do EndNote Web diminuiu a quantidade de referências em 242 duplicatas. Dos 1.523 materiais restantes, 1.239 foram eliminados após análise do título e dos resumos. O acervo inicial foi formado pelos 284 artigos remanescentes; sua análise de texto integral culminou na eliminação de 111 artigos. Finalmente, a presente revisão baseou-se nos dados

obtidos em um total de 173 artigos científicos, teses e dissertações.

**Caracterização dos documentos.** 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%).

Com relação ao ano de publicação dos trabalhos, foi observado 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, mesmo sendo realizada a busca no primeiro semestre de 2021, esse ano ainda mostrou resultados mais expressivos quando comparados com 2012 e 2013. Os resultados numéricos da atividade antioxidante obtidos nos trabalhos que compõem o acervo dessa revisão bibliográfica podem ser visualizados em maior detalhes em outro trabalho publicado pelo mesmo grupo (24). Em linhas gerais, os extratos de própolis da abelha *A. mellifera* mostraram bons resultados antioxidantes. Inclusive, aproximando-se, em alguns casos, de antioxidantes já bem estabelecidos na literatura, tanto nos estudos *in vitro* quanto *in vivo*, demonstrando o potencial desse produto natural de ser utilizado em formulações diversas pelas indústrias.

Não obstante, nota-se uma grande variação entre os valores dos testes de avaliação de atividade antioxidante dos materiais. Tais diferenças observadas 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 (1,18). Esses fatores serão discutidos em detalhes a seguir.

**Local de coleta.** 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 1A). 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 (2). Isso se deve ao fato de que esse país possui atividades apícolas em toda a sua vasta região territorial, com climas variados, associado com a presença de abelhas africanizadas; há, portanto, grande possibilidade de criação desses insetos durante todo o ano (25).

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 (26). Segundo a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA), no ano de 2021, o valor atingido pela exportação de produtos apícolas de origem brasileira foi de US\$ 125,6 milhões; quando comparado com 2020, observa-se aumento de 124,6% (27). Com relação à própolis, comparando-se o mesmo período dos anos de 2019 e 2020, houve crescimento de exportação de cerca de 30% (28). O Japão é conhecido como o principal responsável pela compra de própolis brasileira (92%), importando 60 toneladas desse produto natural a cada ano (2,6,29).

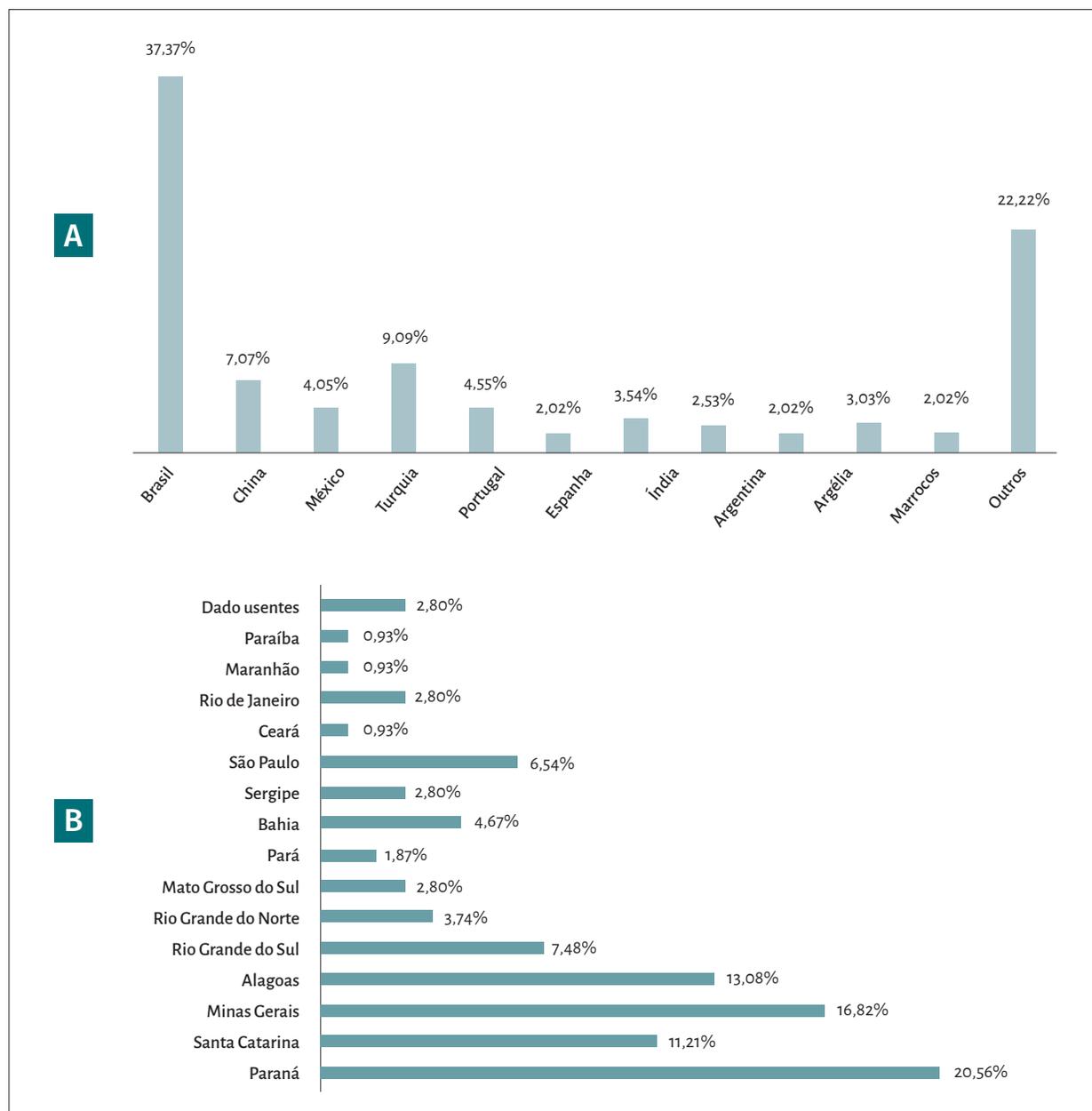
Com relação aos estados brasileiros nos quais houve coleta de amostras (Figura 1B) destacam-se aqueles localizados na Região Sul, como Paraná e Santa Catarina, amplamente conhecidos pela produção de própolis orgânica, e na região Sudeste (Minas Gerais). Este último Estado é responsável por 70% da produção nacional, equivalendo 30 a 29 toneladas, sendo 20 delas apenas de própolis verde, uma das mais bem avaliadas internacionalmente. O Estado de Alagoas também se sobressai, principalmente nos trabalhos desenvolvidos com a própolis vermelha.

**Raça da abelha.** As abelhas da espécie *Apis mellifera* são popularmente conhecidas como “abelhas ocidentais” ou “abelhas europeias” (4). Sua origem provável remete à Ásia, Oriente Médio ou África, com expansão para todos os continentes, com exceção dos polos (30). A intervenção humana foi responsável pela chegada de tais

insetos na América, na data provável de 1622, já que essa espécie tem alta capacidade de produção melífera (30-32). As migrações diversas das abelhas deram origem a variações da espécie, baseados no habitat, clima e vegetação preferida

por cada subespécie. Existem 25 subespécies de *A. mellifera* (33). Alguns exemplos conhecidos são as abelhas italianas *Apis mellifera* linguistica e aurea, e a africana agressiva, *Apis mellifera* scutellata (32).

**Figura 1.** 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 onde houve coleta de própolis.

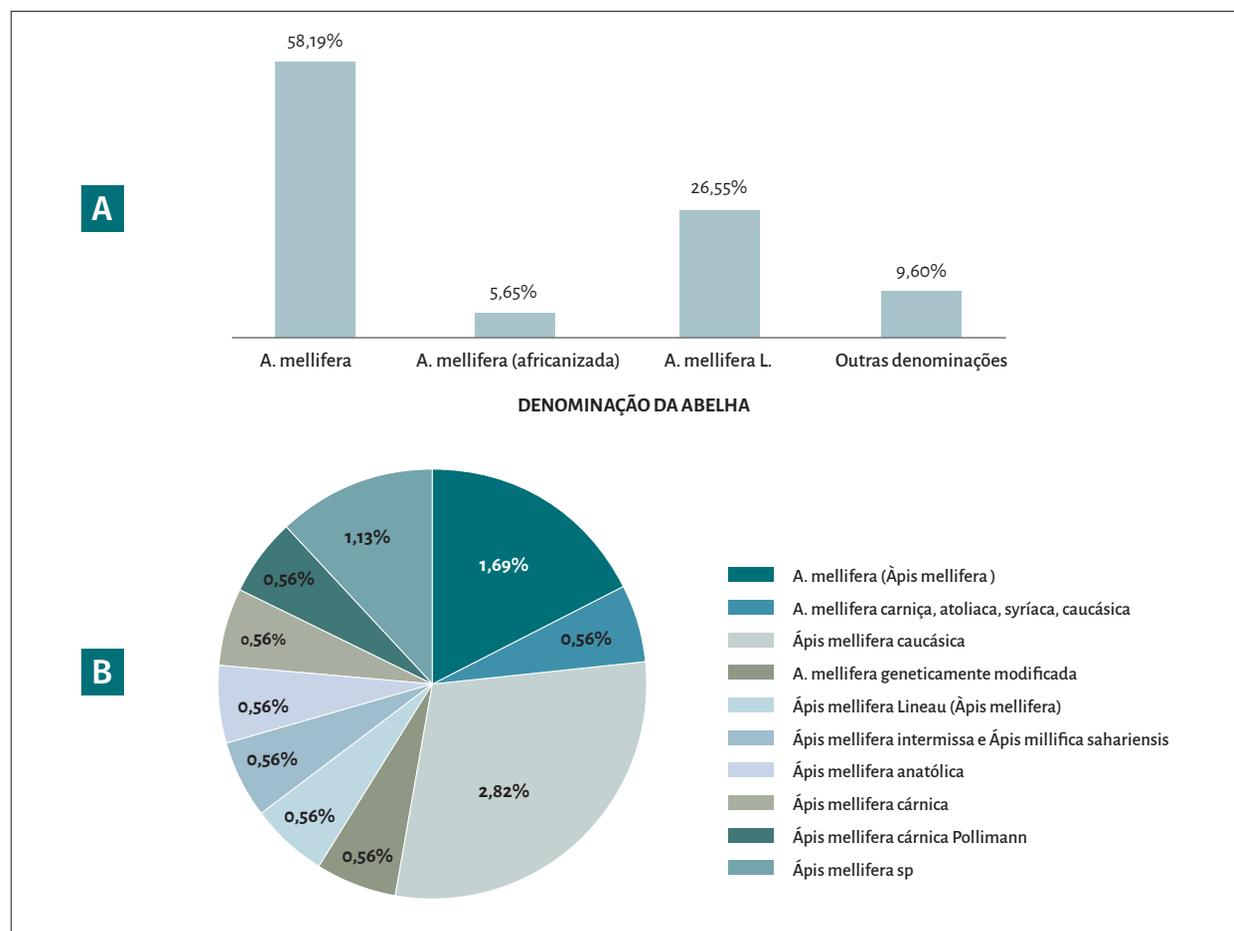
No Brasil, ocorreu ainda outro fenômeno: a miscigenação entre as raças. Abelhas africanas escaparam de suas colmeias, reproduzindo-se com abelhas europeias. O híbrido formado denomina-se “abelha africanizada” (2,25).

Embora atualmente essa nova abelha seja amplamente explorada pelos apicultores, devido a suas características vantajosas de alta produtividade de mel e própolis, mesmo em temperaturas baixas, bem como de resistência a doenças e a escassez de alimentos, ótima adaptação a habitats e migrações (2,19), nem sempre esse foi o quadro. Inicialmente, o surgimento de abelhas híbridas africanizadas foi visto como negativa, já que a nova raça era muito agressiva (houve morte de pessoas e animais) e possuía inclinação para enxameamento. O descarte da atividade apícola

pelos apicultores só foi superado na década de 70, por meio do surgimento de novos estudos na área, ao trazerem vantajosas perspectivas, além de melhoria nas técnicas de criação desses insetos (25).

Quanto às 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 2). Essa variedade e ausência de padronização na descrição demonstra 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 2.** Representação gráfica da nomenclatura da abelha utilizada em cada material dessa revisão.

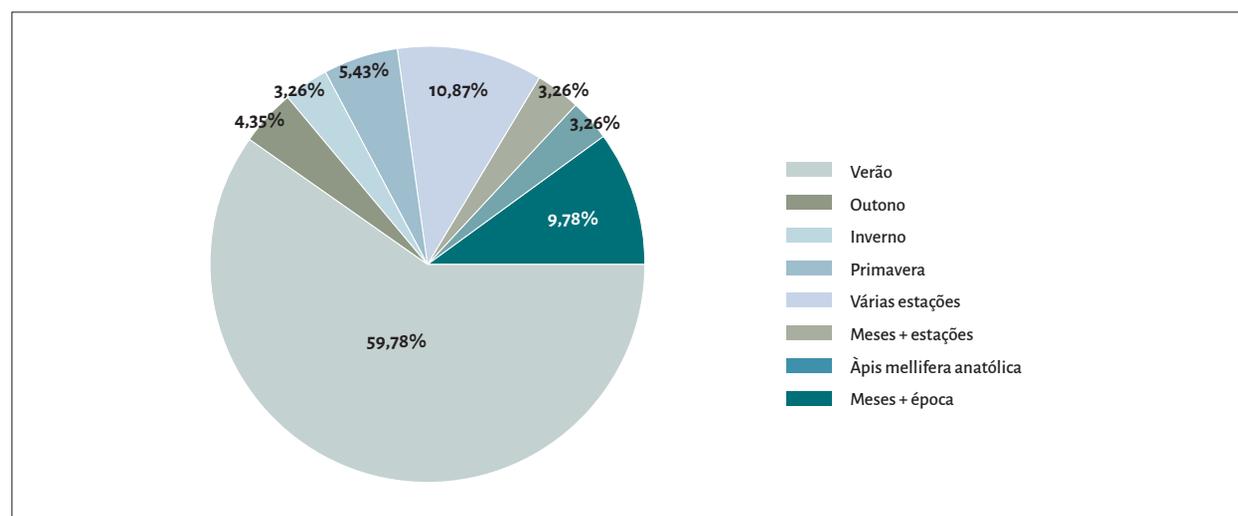


A) Denominações mais comuns nos trabalhos; B) Desmembramento de nomenclaturas usadas menos frequentemente, incluídas anteriormente, na figura A, como “outras denominações”.

Época de coleta (sazonalidade). Apenas 57,06% dos trabalhos trouxeram claramente a informação da época de coleta das amostras de própolis. Isso tornou difícil a comparação de resultados, pois, 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 à 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 3).

**Figura 3.** Denominação da época de coleta das amostras de própolis no material bibliográfico utilizado nessa revisão.



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 (34,35). 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 (36).

Um dos artigos demonstrou bem o impacto de alguns fatores de variação na capacidade antioxidante e na composição da própolis. Calegari e cols. (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 (extrato etanólico de própolis) (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 cromatografia líquida de alta eficiência. 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% (5). Os insetos coletam 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 (2). Além disso, os períodos mais quentes favorecem a volatilização de compostos, o que permite que os insetos encontrem as resinas com maior facilidade (37). 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 têm maior afinco na coleta de néctar do que na produção de própolis (19).

Em relação à época do ano de escolha dos insetos para coleta do material base para a própolis, foi observada a 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 (38). Devido ao Brasil possuir um vasto território, a coleta de própolis pode ocorrer o ano todo. É esperado, portanto, variações sazonais. Porém, devido às 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 (2,38). Na região sudeste, há a diminuição da temperatura no inverno, ocasionando uma menor atividade das abelhas (5).

Dados diferenciando extrato aquoso do metanólico foram publicados por Miguel e cols. (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 (39).

Por fim, ainda no quesito da diferença por sazonalidade, Adelman (2005) afirmou 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 (19). De fato, alguns autores afirmaram que a coleta de própolis no inverno deve ser evitada, a fim de poupar a colmeia de eventuais danos e prejuízos (2,36). Em regiões de clima temperado, a coleta da própolis ocorre antes do início do inverno. Em zonas tropicais, o evento acontece no início da estação chuvosa (40), quando ocorre o brotamento de novas plantas (36).

**Tipos de própolis e fontes vegetais.** A identificação da fonte botânica da própolis vem ganhando espaço nas pesquisas mundiais. É uma tarefa bastante complexa, pois 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 (37).

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 (35,41). 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 *Baccharis dracunculifolia* DC. da própolis verde, bem como o seu marcador, a artepilina C (37).

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 (35,42,43).

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, pois 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 (42,44). 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 (37).

Ainda, tais dados podem ser obtidos por meio do estudo complementar por fotos e vídeos da rotina das abelhas *in loco*, acompanhando-as até as plantas propolíferas de escolha; ou até mesmo por meio 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 (37).

As espécies vegetais mais visitadas por esses insetos são diversos tipos de coníferas, choupos (*Populus* spp.), faia (*Fagus sylvatica* L.), castanha da Índia (*Aesculus hippocastanum* L.), videiro (*Betula alba* L.), amieiro [*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.], olmos (*Ulmus* spp.), pinheiros (*Pinus* spp.), e carvalhos (*Quercus* spp.). A escolha da coleta muda de acordo com a região.

Em zonas temperadas, há a maior prevalência de coleta de espécies de álamo, enquanto nas regiões tropicais, as abelhas visitam as plantas *B. dracunculifolia* (alecrim-do-campo), *Dalbergia ecastophyllum* (L.) Taub. (rabo-de-bugio), *Hyptis divaricata* Pohle x Benth. e *Clusia* spp. (*clusia*) (40,45).

No Brasil, os pesquisadores possuem ainda mais dificuldade em encontrar as espécies vegetais resiníferas, pois o país possui uma flora riquíssima, com grandes possibilidades de escolhas pelas abelhas (45). Embora poucas fontes tenham sido identificadas, sabe-se que há a visita dos insetos às plantas assapeixe, aroeira, alecrim (33), *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (pinheiro brasileiro) e *Eucalyptus citriodora* Hook. (eucalipto) (42).

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 (39). Não se conhece com exatidão como as abelhas são direcionadas para determinada espécie vegetal, de forma seletiva (6, 46). Segundo Ikegaki (2001), as abelhas apresentam um grupo de genes codificadores, que informam sobre as características da vegetação preferencial. Esse quadro sugere a ocorrência de produção de própolis semelhantes por uma espécie de abelha, mesmo que se encontrem em diferentes regiões do mundo. Ainda, outros fatores importantes para a escolha da vegetação são o formato da flor, a luz, temperatura e estação do ano (47).

A própolis pode ser classificada em tipos, a depender do perfil químico, atividades biológicas (principalmente antioxidante e antimicrobiana), além da origem geográfica e vegetal preferencial de coleta (48).

No Brasil, foram totalizados 13 grupos. Os provenientes da Região Sul são a própolis amarela (01), castanha clara (02 e 04), castanho escuro/álamo (03) e marrom esverdeado (05). Aqueles encontrados na Região Nordeste são a

marrom avermelhada (06), marrom esverdeada (07), castanho escuro (08 e 10), amarela (09 e 11) e vermelha (13). A própolis verde/marrom esverdeada (grupo 12) é obtida tipicamente na Região Sudeste do Brasil (2,49).

Denomina-se de própolis verde aquela obtida nos estados do Sudeste e do Centro do Brasil – e unicamente nesse país -, cuja fonte botânica é a espécie vegetal *B. dracunculifolia* DC (alecrim-do-campo, vassourinha, alecrim de vassoura). Dentre todos os tipos de própolis, sobre esta reside a maior quantidade de trabalhos e estudos (2,7), devido à grande variedade de atividades biológicas (51). Seu marcador principal é a artepilina C, derivada do ácido hidrocínâmico prenilado (52,53), mas também pode ser encontrada a bacarina (54). Outros componentes da própolis verde são o ácido p-cumárico e drupanina (2,7). Possui aspecto duro e friável, transformando-se em pó frente a uma força mecânica. As várias tonalidades de verde que apresenta provém da clorofila existente nas folhas jovens da sua fonte vegetal (38,52).

Em 2007, foi descoberto um novo tipo de própolis brasileira: própolis vermelha (13º tipo). Pode ser encontrada nos Estados no Nordeste do Brasil, principalmente no litoral e na costa de rios. A fonte botânica é *D. ecastapillum* (rabo-de-bugio), uma leguminosa (2,7); os marcadores são a quercetina, biochanina A e pinocembrina

(54,55). Uma de suas características é a presença abundante de chalconas, pterocarpanos e isoflavanoides (11,56). Sabe-se que esse grupo apresenta elevado potencial em suas atividades biológicas, e algumas substâncias (vestiol, neovestiol, formononetina e medicarpina) são encontradas unicamente nesse tipo. Devido a esse fato, pode valer até cinco vezes mais que a própolis verde. Um tipo semelhante, chamado de clusia, é típico de países como Cuba e Venezuela, cujas espécies vegetais são *Clusia nemorosa* G.Mey. (Clusiaceae) e *Clusia scrobiculata* Benoit, respectivamente (38,57).

Ainda, é importante ressaltar que outros grupos também já tiveram elucidação da sua origem botânica. O tipo 06 (marrom avermelhada) advém da planta *H. divaricata* (2), sendo rica em hiperibone A. O grupo 03 (poplar/álamo) é produzida por abelhas com preferência pelo álamo (50,52). Na Amazônia, a própolis provavelmente tem sua origem no exsudato vegetal das espécies de *Clusia* spp. (11), com abundância de benzofenonas polipreniladas (52). A própolis chamada de amarela advém majoritariamente da *Clusia rosea* Jacq. (Copey), contendo grandes quantidades de benzofenonas poli-isopreniladas (50). Ainda, a própolis marrom, natural do Paraná, tem *A. heteropilla* identificada como origem botânica (6). Um resumo dos tipos de própolis brasileiras pode ser encontrado abaixo, no Quadro 1.

**Quadro 1.** 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)	-	NI
Grupo 02	Castanho claro	Sul (RS)	-	NI
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)	-	NI
Grupo 05	Marrom esverdeado	Sul (PR)	-	NI
Grupo 06	Marrom avermelhado	Nordeste (BA)	<i>Hyptis divaricata</i>	Ésteres de ácidos graxos; compostos aromáticos; terpenos; flavonoides;
Grupo 07	Marrom esverdeado	Nordeste (BA)	-	NI
Grupo 08	Castanho escuro	Nordeste (PE)	-	NI
Grupo 09	Amarelo	Nordeste (PE)	-	NI
Grupo 10	Amarelo escuro	Nordeste (PE)	-	NI
Grupo 11	Amarelo	Nordeste (PI)	-	NI
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, AL)	<i>Dalbergia ecastophyllum</i>	Flavonoides: pinoembrina, formonnetina, rutina, quercetina, dalbergina; Ácidos fenólicos: ácido ferúlico;

Adaptado de Almeida, 2017 (58). NI: não informado.

Fora do Brasil, outros tipos de própolis também foram satisfatoriamente analisados e sua fonte botânica identificada. Em locais não tropicais, como Europa, América do Norte e alguns locais da Ásia, observa-se a popular “própolis de álamo” (tipo poplar) (11). Essa denominação é explicada pela espécie vegetal preferida das abelhas locais: brotos de *Populus* spp. O perfil químico é marcado pela presença de flavonoides (pinoembrina, pinobanksina, crisina, galangina, kaempferol e pinobanksina-3-acetato), ácidos fenólicos e seus ésteres (19,22,54).

A própolis do tipo Vidoeiro, cuja espécie botânica é *Betula verrucosa* Ehrh., é amplamente encontrada na Rússia. Embora os grupos presentes assemelhem-se àqueles encontrados na própolis de álamo, compostos diferentes estão presentes. Nas ilhas do Pacífico (Okinawa, Taiwan e Indonésia), há a predominância do tipo Pacífico, com espécie vegetal identificada como *Macaranga tanarius* L. Müll.Arg. A própolis do tipo Mediterrâneo é obtida de países como Grécia, Sicília e Malta (fonte vegetal: coníferas), composta por diterpenos. Por fim, a Bolívia conta com tipos de própolis ricas em fenil propanoides prenilados e triterpenos. A própolis produzida em Oman (tipo Omani) teve sua origem botânica identificada como *Azadirachta indica* A.Juss. e *Acacia* spp. (11,3845).

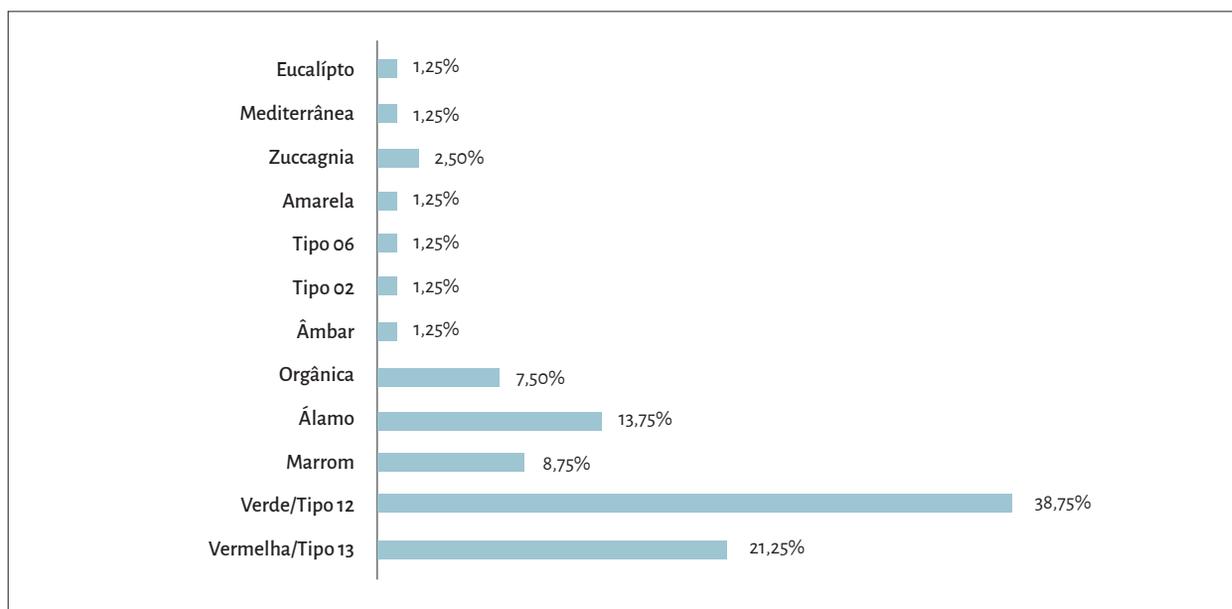
Devido à mudança nos meios de produção, um novo tipo de própolis vem ganhando espaço no comércio mundial: a própolis orgânica. É assim denominada aquela produzida unicamente em áreas com o mínimo de danos ao ecossistema da região, como em reservas ambientais ou áreas reflorestadas. Para obter o título de “orgânica”, esse material natural deve seguir uma série de requisitos existentes na Instrução Normativa nº 64, tais como: ausência do uso de radiação ionizante, aditivos artificiais, agrotóxicos sintéticos, seres transgênicos, fertilizantes minerais solúveis e drogas veterinárias convencionais. Além disso, a localização das colmeias deve distar, no mínimo, 3 km de áreas de agricultura convencional ou outras fontes de contaminação (aterros, depósitos de lixo, zonas industriais ou urbanas); agricultura orgânica ou mata nativa são os locais referenciais (59). Contudo, as abelhas possuem um arco de vôo ao redor da colmeia de cerca de 5 km, com capacidade de visitar distâncias ainda maiores se necessário. A continuidade da qualidade da própolis orgânica é garantida por meio de auditorias periódicas nas regiões de produção, realizadas pelo Ministério da Agricultura (36).

Essa modalidade de produção permite a obtenção de um tipo de própolis amplamente apreciada pelos entusiastas de uma alimentação mais

saudável, livre de agrotóxicos, bem como pelos defensores ambientais, pois apresenta baixos teores de contaminantes/poluição. Pensa-se que a própolis orgânica tem sua composição química baseada principalmente em compostos como ácidos fenólicos, conhecidos por várias atividades biológicas, a citar a antioxidante. Uma das explicações possíveis é o ambiente distante de fontes típicas de contaminantes como centros urbanos (36). Ainda, as plantas ao redor da colmeia sofrem pressão para a produção de compostos bioativos, dada a proibição de uso de agentes químicos protetores contra pragas (2).

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 citaram própolis orgânica, produzida no sul e sudeste do Brasil (7,50%) (Figura 4). A quantidade de trabalhos que especificaram a fonte vegetal da própolis foi ainda menor: 32,20% dos materiais trouxeram essa informação.

**Figura 4.** Tipos de amostra de própolis utilizadas nas pesquisas dos trabalhos que compõem o acervo dessa revisão bibliográfica.



**Metodologia de coleta da própolis.** No que se refere à 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 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 este método 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 (60).

Como alternativa, há o uso de malhas ou grades de plástico, que são adicionadas à colmeia. Como essas lâminas de plástico possuem furos, as abelhas os preenchem com própolis, a fim de pro-

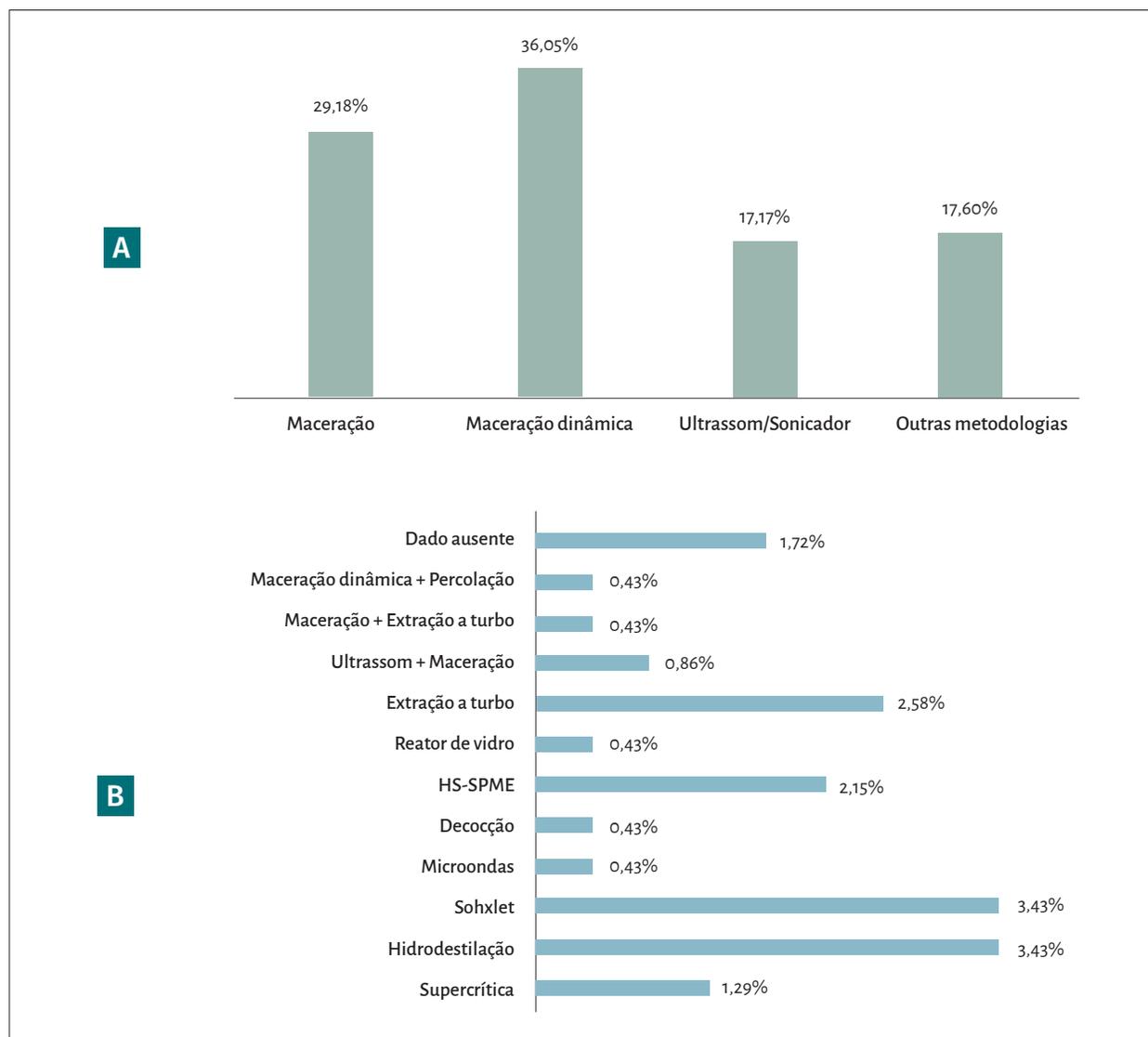
toger a colmeia de vasos e do frio. Na época da coleta, esse processo fica mais fácil e a própolis obtida pelas lâminas são reconhecidas como possuidoras de uma maior qualidade (60), pela menor presença de detritos (40).

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 caracte-

rístico, 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 (61).

**Extração e formas farmacêuticas.** Conquanto haja comércio de cápsulas com própolis bruta triturada (46), esse produto natural geralmente não pode ser usado diretamente em sua forma original, devido à sua natureza pegajosa (38).

**Figura 5.** 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.

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 (55,62). Essa é uma etapa essencial quando se pensa em análises de amostras com matrizes complexas (63).

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 (46). 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 précominuição, 62,22% dos trabalhos avaliados 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 ren-

dimento, 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 (53,64).

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 *Headspace Solid Phase Microextraction* (HS-SPME) (Figura 5). 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 (7). 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 (65).

Nos últimos anos, a extração utilizando aparelho de ultrassom vem se popularizando no âmbito de extração de compostos bioativos advindos de fontes naturais (66). 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 termossensíveis (13,53). 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 de usar solventes alternativos (53,67). Tal aumento de rendimento advém de uma melhor transferência de compostos, devido à alta formação de cavitação (53).

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 (53).

Luján e cols. (2018) compararam 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 (68).

Outra forma de extração muito difundida para obter compostos orgânicos utiliza-se do equipamento de Soxhlet. É uma metodologia antiga para extração contínua a frio, contando com um destilador e um aparelho de condensação, ambos ligados com um recipiente principal de vidro, no qual está presente a 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 (46,63).

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 (40). 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, possui atividades biológicas, tais como antimicótico, antiviral, antiparasitário, antioxidante, anticâncer e anti-diabético (69).

Outra metodologia para extração de compostos voláteis da própolis é a *Solid Phase Micro Extraction* (SPME), 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-divinilbenzeno, PDMS-divinilbenzeno e carbozen-PDMS), temperatura, pH, força iônica, tempo de extração e volume da amostra (70,71).

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 à evaporação do solvente, vaporização e decomposição de compostos ativos (56,72). Alguns autores afirmaram que o processo extrativo deve ser realizado em temperaturas de, no máximo, 80 °C, a fim de evitar tais perdas por oxidação e polimerização, prejudicando o rendimento da extração (46).

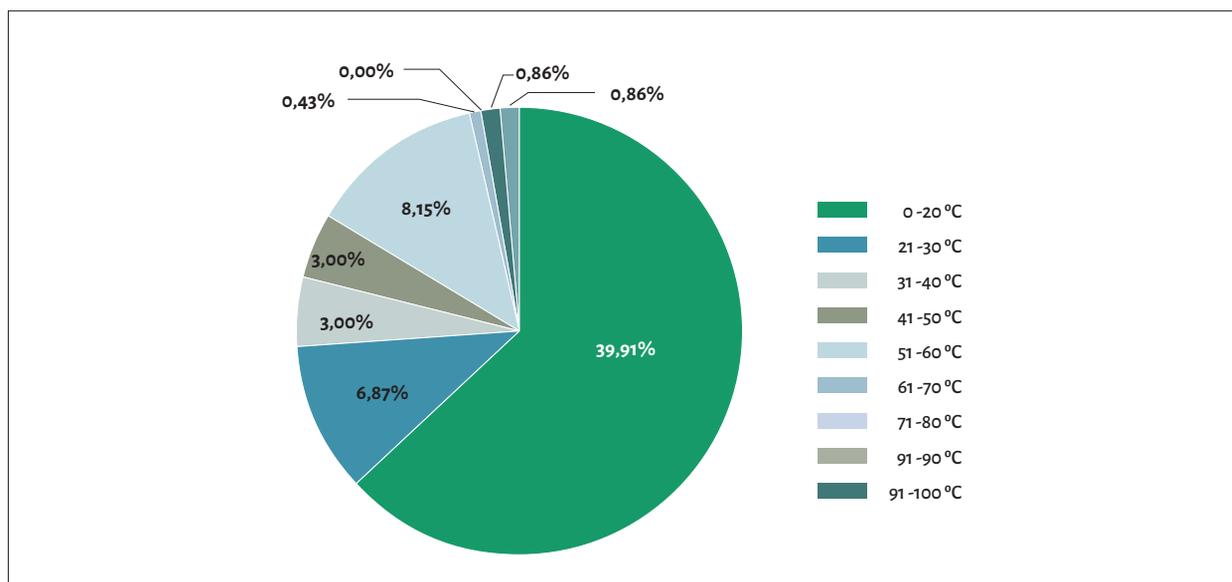
Dentre as descrições de metodologia da obtenção dos extratos usados nessa revisão, 69,10% dos autores informaram a temperatura na qual foi realizada a extração. Dados qualitativos foram usados por 1,72% deles, com expressões: “banho de gelo” (1,29%) e “aquecimento suave” (0,43%). Outros 4,29% utilizaram-se mais de uma temperatura, formando uma faixa; geralmente, essa forma de trabalho foi utilizada por autores 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% do material consultado trouxeram dados quantitativos específicos das temperaturas escolhidas, que podem ser observados na Figura 6.

As temperaturas mais comumente citadas foram aquelas situadas na faixa ambiente, entre 20 e 30 °C. Isso pode ser explicado pelo grande número de pesquisadores que optaram por maceração como seu modo de extração e, muitas vezes, esse processo é realizado sem aquecimento. Além disso, são temperaturas seguras quanto à

degradação de compostos bioativos, com baixo gasto de energia. Quando o aquecimento foi utilizado, temperaturas próximas ao 70 °C (8,15%),

foram preferidas, por serem abaixo do ponto de ebulição do etanol (78,37 °C), o principal solvente dos extratos dessa revisão.

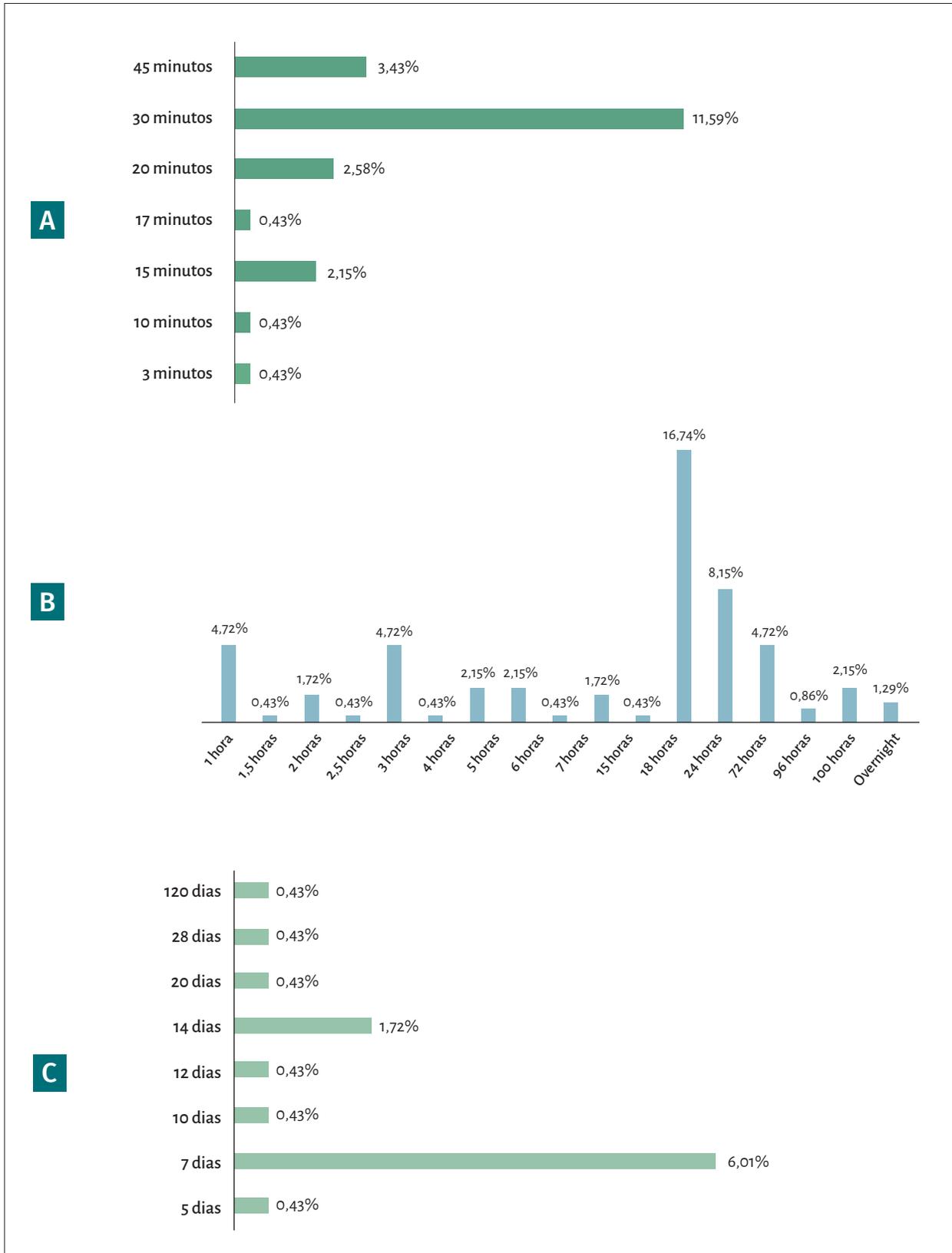
**Figura 6.** Temperaturas explicitadas de forma numérica nas metodologias de extração das amostras de própolis presentes nessa revisão bibliográfica.



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 (56). A depender dos parâmetros do processo, torna-se necessário acrescentar ao sistema agentes redutores (72). Com relação aos autores dos trabalhos que compõem o acervo dessa revisão, 89,27% informaram os dados de tempo de extração (Figura 7).

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. O processo de maceração foi aquele descrito com 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.

**Figura 7.** Tempo de extração das amostras de própolis escolhido pelos autores 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.

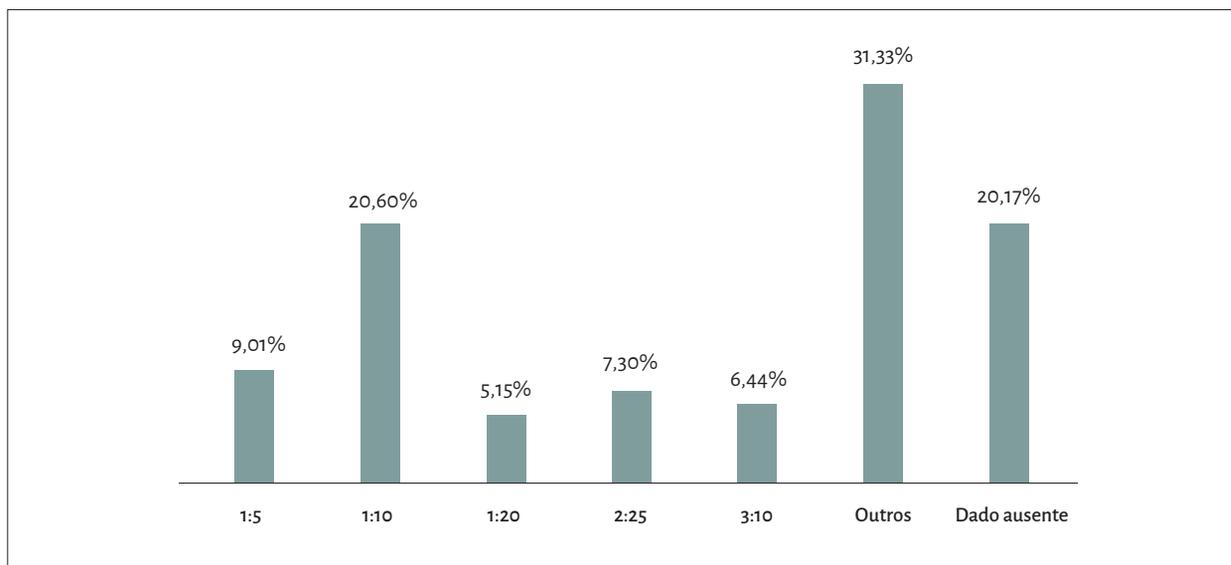
Soma-se a esses parâmetros de importância a proporção entre a quantidade de amostra e o volume de solvente, que pode influenciar diretamente na eficiência de extração dos compostos, ao promover saturação do líquido. Nessa revisão, como pode ser visualizado na Figura 8, os autores que informaram esses 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 (7).

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 (7,73,74).

**Figura 8.** Proporção (g/mL) entre a massa de amostra de própolis e volume de líquido extrator utilizado nos trabalhos da presente revisão bibliográfica.



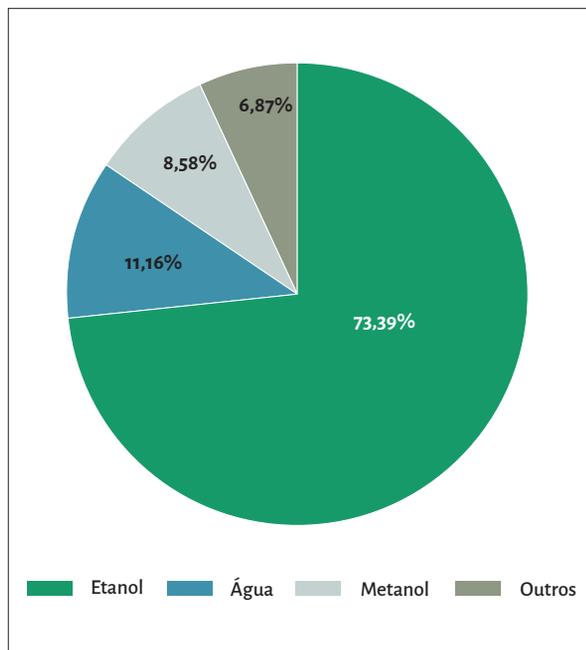
Outro ponto interessante é que podem ser adicionados outros solventes durante a extração, a fim de alterar a polaridade e extrair uma maior diversidade de classes químicas. Isso tem importância crucial na extração de amostras de própolis, pois estas não são solúveis em CO<sub>2</sub>; isso ocasiona um 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 (7), técnica utilizada por 2 dos 3 trabalhos que usaram extração supercrítica.

O trabalho conduzido por Devequi-Nunes e cols. (2018) mostrou 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% (74). O mesmo foi observado por Machado e cols. (2016); embora a extração total tenha sido mais satisfatória com a maceração convencional, o processo supercrítico com CO<sub>2</sub> levou a uma 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 (73). Diante desse quadro, alguns autores afirmaram que a extração supercrítica pode ser usada como um pré-tratamento da própolis, antes que seja extraída com etanol (74) ou em situações nas quais se deseja obter frações da própolis ricas em compostos lipofílicos (73).

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 (1). 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 (46).

A Figura 9 mostra a preferência dos autores dos trabalhos selecionados nessa revisão pelos solventes.

**Figura 9.** 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 (1). 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 (35,46). É possível usar outros solventes, tais como acetona, para extrair flavonóis; clorofórmio, para flavonoides e terpenoides; e diclorometano, para terpenoides, taninos, esteróis e alcalóides. Caso seja necessário extrair ácidos graxos e cumarinas, o único solvente possível é o éter (1).

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 (19), pois apresentam menor toxicidade (1). A água, como composto polar, consegue solubilizar apenas uma pequena parte das substâncias da própolis – cerca de 10% (13,75), sendo encontrados nos extratos basicamente ácidos fenólicos, com ausência das substâncias lipofílicas (40).

A fim de otimizar a extração utilizando a água como solvente, Mello e Hubinger (2012) extraíram amostras de própolis com água em diferentes valores de pH (2,0 – 8,0). Foi observado que a acidificação do meio não levou a 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 valor de pH (entre 6,0 e 8,0) possibilitou melhorar a quantidade de compostos fenólicos e flavonoides extraídos. Isso pode ser explicado pelo fato de que compostos fenólicos apresentarem muitos grupos ácidos, que em meio 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 (76).

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 (46).

O etanol é o solvente mais popular para extração da própolis, como já mencionado, devido suas características anfífilas de solubilizar tanto substâncias polares quanto apolares (63). Tem a capacidade de extrair principalmente alcaloides, terpenoides, taninos, esteroides, poliacetilenos e polifenóis (1), com a propriedade de solubilizar de 50% a 70% dos constituintes da própolis (13). Além disso, o etanol não é tóxico e pode ser facilmente removido das formulações posteriormente, promovendo a chamada química segura (46,66). Porém, deve-se ter em mente que nem todos os tipos de álcool etílico no mercado são seguros para uso humano, pois alguns 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 (46). Apenas 0,86% dos trabalhos dessa revisão especificaram o uso de álcool próprio para consumo humano.

Soma-se as vantagens apresentadas, o fato de que a temperatura de ebulição do etanol (78 °C) não degrada 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 (77). Por fim, o álcool etílico não é caro e tem baixo impacto ambiental, sendo obtido por vias renováveis (46).

A extração etanólica é considerada “de referência” pelos apicultores para o preparo tinturas comerciais populares (78). Quanto maior a parte solúvel em etanol (resinas), maior será o rendimento do extrato e maior a qualidade do produto final, pois os constituintes biológicos encontram-se nessa porção (79). 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” (80).

Geralmente, é usada uma proporção na mistura entre solventes orgânicos e água, gerando melhores resultados extrativos de compostos fenólicos (1), 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 (81).

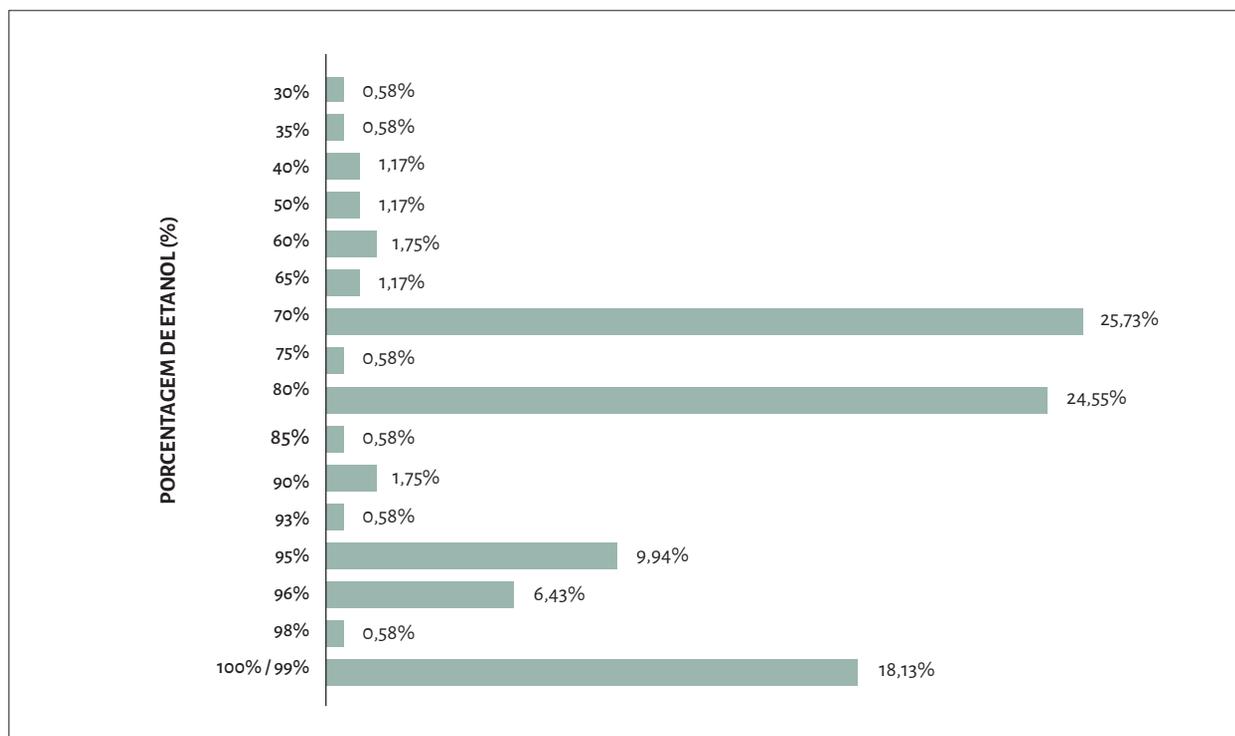
O trabalho realizado por Sun e cols. (2015) demonstrou que, dentre as várias proporções de etanol e água utilizadas (0; 25; 50; 75 e 100%), a mistura de etanol 75% obteve os melhores resultados de extração de polifenóis e flavonoides totais (75).

Como a concentração de solventes usados para o preparo dos extratos de própolis influencia o rendimento da extração de compostos bioativos e, conseqüentemente, na sua atividade biológica (82), na Figura 10 estão os dados constantes nos trabalhos da presente revisão bibliográfica, para extratos etanólicos em água. Não estão presen-

tes os dados que usaram faixas de proporções (4,68%). Dentre os autores 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 10.** Proporções entre etanol e água escolhidas pelos autores citados nessa revisão, para 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 (13). Esse fator prejudica, também, o uso da própolis em formulações alimentícias, pois 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 (26,83).

A fim de buscar soluções para os problemas supracitados, diversos autores propuseram o uso da própolis em formulações contendo formas de liberação modificada. Já foram testadas micropartículas (84), microcápsulas (14,49,58,85-87), nanopartículas (88-90), nanocarreadores (91), outros tipos de carreadores (92) e formulações (17,93,94), além do uso da própolis após processo de *spray-dryer* (49,61,92).

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 (58,87).

Nascimento e cols. (2016) e Farias e cols. (2018) produziram nanopartículas com a própolis vermelha, e conseguiram encapsular satisfatoriamente seus compostos fenólicos ativos, promovendo boa atividade antioxidante e anti-leishmaniose (87,89).

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 à 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 (49,84,85). Os compostos bioativos, no geral, têm difícil solubilidade (84) e baixos perfis de dissolução, o que dificulta a permeação pelas membranas dos tecidos corporais (91). 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 (87).

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 (93).

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 (87).

Alguns autores citados nessa revisão promoveram estudos que buscavam otimizar a extração dos compostos, comparando parâmetros como temperatura, tempo de extração e concentração do solvente. Oldoni e cols. (2015) encontraram que, dentre as combinações testadas, a que demonstrou melhor capacidade extrativa

e antioxidante foi o processo de maceração que utilizava etanol 80% (etanol:água), 70 °C e 45 minutos de extração (62). Cavalaro (2017) encontrou proporção de 1:30 (entre amostra e solvente) e 25 minutos de extração como a melhor combinação de parâmetros, ao utilizar o método extrativo por ultrassom (53). Oliveira e Andolfatto (2014) obtiveram, como melhores parâmetros, concentração de etanol de 80%, tempo de extração de 45 minutos e temperatura de 70 °C, quando usado o método de maceração (72). Bakkaloglu e cols. (2021) estudaram os efeitos do uso de maceração dinâmica e extração por ultrassom, obtendo uma melhor extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante pelo método de ultrassom (64).

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 “coprodutos”. 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 (26,69).

Os grandes apiários realizam a extração mais de uma vez, aproveitando melhor os descartes. Porém, isso não é comum na rotina dos pequenos produtores (95). Embora seja uma área muito interessante e inovadora, esses dados não foram explorados na presente revisão bibliográfica.

## CONCLUSÃO

A própolis é um produto natural com diversas atividades biológicas a ela atribuídas, além de possuir alto valor agregado e *status* GRAS, que permite o uso em cosméticos, medicamen-

tos e alimentos, como uma alternativa natural a outros compostos. Porém, a diferença na composição química faz com que o uso da própolis pela indústria seja dificultado ao redor do mundo, devido à ausência de padronização de técnicas de coleta, extração e análise das amostras, além das variações naturais que advêm do local de coleta, sazonalidade e espécie de abelha. Os resultados obtidos nessa revisão demonstraram que os principais fatores que resultam em variabilidade são localização e época de coleta (sazonalidade), raça da abelha, tipo de própolis/fonte botânica, método de coleta, e preparo do extrato (solvente, tempo e metodologia de extração).

## REFERÊNCIAS

1. Wagh VD. Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Adv. Pharmacol. Sci.* 2013;2013. DOI: 10.1155/2013/308249.
2. Pandolfo VZ. Caracterização e efeito da variação sazonal da própolis orgânica produzida no sul do Brasil. [Dissertação]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Querioz”, USP. 2014.
3. Ferreira JM. Características sensoriais, físico-químicas e atividade biológica da própolis produzida no semiárido do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. [Dissertação]. Mossoró: Universidade Federal Rural do Semiárido. 2015.
4. Bonamigo T, Campos JF, Oliveira AS, Torquato HFV, Balestieri JBP, Cardoso CAL, Paredes-Gamero EJ, Souza KP, Santos EL. Antioxidant and cytotoxic activity of propolis of *Plebeia droryana* and *Apis mellifera* (Imenoptera, Apidae) from the Brazilian Cerrado biome. *PloS One.* 2017;12(9). DOI: 10.1371/journal.pone.0183983
5. Calegari MA, Prasniewski A, Silva CD, Sado RY, Maia F, Tonial L, Oldoni TL. Propolis from Southwest of Paraná produced by selected bees: Influence of seasonality and food supplementation on antioxidant activity and phenolic profile. *An. Acad. Bras. Cienc.* 2017;89(1):45-55. DOI: 10.1590/0001-3765201620160499
6. Ferreira VU. Caracterização química, atividades antioxidante, antileucêmica e antimicrobiana da própolis âmbar sul brasileira. [Dissertação]. São Gabriel: Universidade Federal do Pampa. 2017.
7. Fianco ALB. Estudo sobre a atividade antifúngica e antioxidante de extratos de própolis obtidos com CO<sub>2</sub> supercrítico. [Dissertação]. Porto Alegre: Faculdade de Engenharia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 2014.
8. Cao XP, Chen YF, Zhang JL, You MM, Wang K, Hu FL. Mechanisms underlying the wound healing potential of propolis based on its in vitro antioxidant activity. *Phytomedicine.* 2017;34:76-84. DOI: 10.1016/j.phymed.2017.06.001
9. Graikou K, Popova M, Gortzi O, Bankova V, Chinou I. Characterization and biological evaluation of selected Mediterranean propolis samples. Is it a new type? *LWT.* 2016;65:261-267. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.08.025
10. Garcia RC, Sá MEP, Langoni H, Funari SRC. Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre a *Pasteurella multocida* “in vitro” e em coelhos. *Acta Sci.- Anim. Sci.* 2044;26(1):69-77. DOI: 10.4025/actascianimsci.v26i1.1952
11. Silva CCFD, Salatino A, Motta LBD, Negri G, Salatino MLF. Chemical characterization, antioxidant and anti-HIV activities of a Brazilian propolis from Ceará state. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2019;29(3):309-318. DOI: 10.1016/j.bjp.2019.04.001
12. Jansen C. Própolis: fitoquímicos e atividade antioxidante, antibacteriana e citotóxica. [Dissertação]. Pelotas: Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas. 2015.
13. Jug M, Končić MZ, Kosalec I. Modulation of antioxidant, chelating and antimicrobial activity of poplar chemo-type propolis by extraction procedures. *LWT.* 2014;57(2):530-537. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.02.006

## CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não há conflito de interesses envolvido nesse trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF) e Universidade de Brasília (UnB) pelo apoio financeiro.

14. Alves CJ. Microencapsulação de própolis utilizando matrizes proteicas para aplicação como ingrediente funcional em alimentos. [Tese]. Pelotas: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. 2018.
15. Pereira CS, Matte WD, Venâncio PHB. Aplicação de extrato de própolis na agricultura. *Rev. Ciênc. Agroambiental*. 2016;14(1):143-156. DOI:10.5327/rcaa.v14i1.1421
16. Expresswire. Propolis Market Size 2022: Sales, Revenue, Prominent Players, Competition, Share, Prospect and Forecast Analysis till 2028. <https://www.marketwatch.com/press-release/propolis-market-size-2022-sales-revenue-prominent-players-competition-share-prospect-and-forecast-analysis-till-2028-2022-03-08>. última atualização: 08 de março de 2022. Acesso: 13 de março de 2022.
17. Luis-Villaroya A, Espina L, García-Gonzalo D, Bayarri S, Pérez C, Pagán R. Bioactive properties of a propolis-based dietary supplement and its use in combination with mild heat for apple juice preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 2015;205:90-97. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.020
18. Gonçalves GMS, Santos NP, Srebernich SM. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis and açaí (*Euterpe oleracea* Mart) extracts. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* 2011;32(3):349-356.
19. Adelman J. Própolis: Variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante. [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 2005.
20. Arslan M, Sevçiler Y, Güven C, Murathan ZT, Erbil N, Yıldırım D, Büyükleyla M, Karadaş Ş, Çelik R, Rencüzoğulları E. Chemical and biological characteristics of propolis from *Apis mellifera caucasica* from the Ardahan and Erzurum provinces of Turkey: a comparative study. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2021;72(1):53-69. DOI: 10.2478/aiht-2021-72-3492.
21. Lima VHMD, Almeida KDCR, Alves CCF, Rodrigues ML, Crotti AEM, Souza JMD, Ribeiro AB, Squarisi IS, Tavares DC, Martins CHG, Miranda MLD. Biological properties of volatile oil from Brazilian brown propolis. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2019;29(6):807-810. DOI: 10.1016/j.bjp.2019.07.004 .
22. Boonsai P, Phuwapraisirisan P, Chanchao C. Antibacterial activity of a cardanol from Thai *Apis mellifera* propolis. *Int. J. Med. Sci.* 2014;11(4): 327. DOI: 10.7150/ijms.7373
23. Oliveira LAA. Potencial antimicrobiano dos extratos de própolis (Verde, Vermelha e Marrom). [Trabalho de Conclusão de Curso]. Mossoró: Universidade Estadual Rural do Semi Árido. 2019.
24. Cruz FB, Martins DHN, Ferreira JF, Magalhães PO, Silveira D, Fonseca-Bazzo YM. Antioxidant Activity of *Apis Mellifera* Bee Propolis: A Review. *J. Nat. Prod. Discov.* 2022;1(1). DOI: 10.24377/jnpd.article655
25. Calegari MA. 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]. Pato Branco: Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2018.
26. Francisco L, Pinto D, Rosseto H, Toledo L, Santos R, Tobaldini-Valério F, Svidzinski T, Bruschi M, Sarmento B, Oliveira MBPP, Rodrigues F. Evaluation of radical scavenging activity, intestinal cell viability and antifungal activity of Brazilian propolis by-product. *Int. Food Res. J.* 2018;105:537-547. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.11.046.27.
27. CNA Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. Agro brasileiro tem exportações de US\$ 11,3 bilhões em julho. [https://www.cnabrazil.org.br/noticias/agro-brasileiro-tem-exportacoes-de-us-11-3-bilhoes-em-julho#:~:text=Bras%C3%ADlia%20\(23%2F08%2F2021,da%20do%20Minist%C3%A9rio%20da%20Economia](https://www.cnabrazil.org.br/noticias/agro-brasileiro-tem-exportacoes-de-us-11-3-bilhoes-em-julho#:~:text=Bras%C3%ADlia%20(23%2F08%2F2021,da%20do%20Minist%C3%A9rio%20da%20Economia). Última atualização: 23 de agosto de 2021. Acesso: 21 de março de 2022
28. APACAME. Associação Paulista de Apicultores Criadores de Abelhas Melíferas Europeias. <https://apacame.org.br/site/revista/mensagem-doce-n-160-marco-de-2021/artigo-3/> Última atualização 03 de março de 2021. Acesso 21 de março de 2022.
29. Fernandes Jr A, Leomil L, Fernandes AAH, Sforzin JM. The antibacterial activity of propolis produced by *Apis mellifera* L. and Brazilian stingless bees. *J Venomous Animals Toxins.* 2001;7(2):173-182. DOI: 10.1590/S0104-79302001000200003.
30. Crane E. The World history of beekeeping and honey hunting. New York: Routledge, p. 682, 1999.
31. Honeybee Genome Sequencing Consortium. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature.* 2006;3(7114):931. DOI: 10.1038/nature05260
32. Souza EA. 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]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. 2016.
33. Huang S, Zhang CP, Wang K, Li GQ, Hu FL. Recent advances in the chemical composition of propolis.

- Molecules. 2014;19(12):19610-19632. DOI: 10.3390/molecules191219610
34. Arruda REDS. Efeito da sazonalidade na composição química e atividades antimicrobiana, antioxidante e tripanossomicida de extratos brutos de própolis vermelha de Alagoas. [Dissertação]. Maceió: Escola de Enfermagem e Farmácia, Universidade Federal de Alagoas. 2019.
  35. Toret VC. Estudo da influência da sazonalidade sobre algumas propriedades físico-químicas e biológicas da própolis de dois apiários do estado de São Paulo. [Dissertação]. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2011.
  36. Lacerda RCC. Avaliação da composição química e atividade antioxidante da própolis orgânica de *Apis mellifera* visando a preservação ambiental do ecossistema envolvido. [Dissertação]. Piracicabana: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP. 2012.
  37. Ferreira JM. Própolis e geoprópolis verde do semiárido do Brasil: Caracterização química, origem botânica e atividade antioxidante. [Dissertação]. Mossoró: Universidade Federal Rural do Semiárido. 2019.
  38. Cunha GF. Biofilmes à Base de Amido Incorporados com Extrato Etanólico de Própolis. [Dissertação] Rio Verde: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. 2017.
  39. Miguel MG, Nunes S, Dandlen SA, Cavaco AM, Antunes MD. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal. *Food Sci. Technol.* 2014;34(1):16-23.
  40. Falcão SLDM. Chemical Composition of Portuguese Propolis. Bioactive Properties. [Tese]. Faculdade de Ciências, Universidade do Porto. 2013.
  41. Marcussi MC, Gutierrez-Gonçalves MEJ. Atividades antimicrobiana e antioxidante da própolis do estado do Ceará. *Rev Fitos.* 2013;4(1):81-86.
  42. Paula VMB. Caracterização química e biológica da “serra de Bornes” por TLC. [Dissertação]. Bragança: Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança. 2012.
  43. Tapia EV. Identificação da fonte botânica, caracterização química e avaliação das atividades biológicas das própolis coletadas no Peru. [Tese]. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2018.
  44. Sánchez RDV, Benavidez EM, Hernández J, Urrutia GRT, Escalante AS. Effect of physicochemical properties and phenolic compounds of bifloral propolis on antioxidant and antimicrobial capacity. *Nova Scientia.* 2020;12(24):0-0. DOI: 10.21640/ns.v12i24.2134.45. Marques RAC. Contributos para a elucidação do modo de ação de própolis português: o caso do própolis do Pereiro. [Dissertação]. Universidade do Minho. 2015.
  46. Salgueiro FB. Caracterização da própolis verde brasileira: substâncias fenólicas, atividade biológica e análise quimiométrica. [Tese]. Seropédica: Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2016.
  47. Oliveira TIF. Efeitos tóxicos de amostras de própolis português: potencial antioxidante e atividades biológicas de extratos e misturas. [Dissertação]. Escola de Ciências, Universidade de Minho. 2015.
  48. 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]. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2001.
  49. Almeida ETC, Silva MCD, Oliveira JMS, Kamiya RU, Arruda RES, Vieira DA, Silva VC, Escodro PB, Basílio-Júnior ID, Nascimento TG. Chemical and microbiological characterization of tinctures and microcapsules loaded with Brazilian red propolis extract. *J. Pharm. Anal.* 2017;7(5):280-287. DOI: 10.1016/j.jpha.2017.03.004.50. Silva KCM. Os diferentes tipos de própolis e suas indicações: uma revisão da literatura. [Dissertação]. Pombal: Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande. 2018.
  51. Pazin WM, Monaco LDM, Soares AEE, Miguel FG, Berretta AA, Ito AS. Antioxidant activities of three stingless bee propolis and green propolis types. *J. Apic. Res.* 2017;56(1):40-49.
  52. Coelho J, Falcão SI, Vale N, Almeida-Muradian LB, Vilas-Boas M. Phenolic composition and antioxidant activity assessment of southeastern and south Brazilian propolis. *J. Apic. Res.* 2017;56(1):21-31. DOI: 10.1080/00218839.2016.1277602.
  53. Cavalari RI. Atividade antioxidante de extratos de própolis verde em sistemas lipídicos emulsionados. [Tese]. Piracicabana: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP. 2017.
  54. Bastos EMA, Simone M, Jorge DM, Soares AEE, Spivak M. In vitro study of the antimicrobial activity of Brazilian propolis against *Paenibacillus* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 2008;97(3):273-281. DOI: 10.1016/j.jip.2007.10.007.
  55. Andrade JKS, Denadai M, Oliveira CS, Nunes ML, Narain N. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from

- Brazilian northeast region. *Int. Food Res. J.* 2017;101:129-138. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.08.066.
56. Morais DV, Rosalen PL, Ikegaki M, Souza Silva, AP, Massarioli AP, Alencar SMD. Active antioxidant phenolics from Brazilian red propolis: an optimization study for their recovery and identification by LC-ESI-QTOF-MS/MS. *Antioxidants*, 2021;10(2):297. DOI: 10.3390/antiox10020297.
  57. Aguiar GR. Estudo químico e avaliação biológica da própolis vermelha de Alagoas. [Dissertação]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará. 2015.
  58. Almeida CP. Obtenção e caracterização de microencapsulados de caseinatos carregados com extrato de própolis vermelha. [Dissertação]. Maceió: Escola de Enfermagem e Farmácia, Universidade Federal de Alagoas. 2017.
  59. 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.
  60. Salazar EA. 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 Pataccocha y Chiara—provincia Andahuaylas. [Tese]. Andahuaylas: Faculdade de Engenharia, Universidade Nacional José María. 2019.
  61. Kunrath CA, Savoldi DC. Própolis como antioxidante em produtos cárneos: aplicação e avaliação em salame tipo italiano. [Trabalho de Conclusão de Curso]. Francisco Beltrão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2014.
  62. Oldoni TLC, Oliveira SC, Andolfatto S, Karling M, Calegari MA, Sado RY, Maia FMC, Alencar SM, Lima VA. Chemical characterization and optimization of the extraction process of bioactive compounds from propolis produced by selected bees *Apis mellifera*. *J. Braz. Chem. Soc.* 2015;26:2054-2062. DOI: 10.5935/0103-5053.20150186.
  63. Lima DRF, Sousa LB, Marciano PMSC, Jofre JBF, Simioni AR. Avaliação das propriedades e potencialidades da própolis verde e sua fonte botânica *Baccharis dracunculifolia*. *Rev Tecnol Tend.* 2019(b);10(2):93-110. DOI: 10.25112/rtt.v10i2.2078.
  64. Bakkaloglu Z, Arici M, Karasu S. Optimization of ultrasound-assisted extraction of turkish propolis and characterization of phenolic profile, antioxidant and antimicrobial activity. *Food Sci. Technol.* 2021;41:687-695. DOI: 10.1590/fst.14520.
  65. Rocha BA, Bueno PCP, Vaz MMDOLL, Nascimento AP, Ferreira NU, Moreno GDP, Rodrigues MR, Costa-Machado ARM, Barizon EA, Campos JCL, de Oliveira PF, Acésio NO, Martins SPL, Tavares DC, Berretta AA. Evaluation of a propolis water extract using a reliable RP-HPLC methodology and in vitro and in vivo efficacy and safety characterisation. *Evid.-based Complement. Altern. Med.* 2013;2013. DOI: 10.1155/2013/670451.
  66. Gargouri W, Osés SM, Fernández-Muiño MA, Sancho MT, Kechaou N. Evaluation of bioactive compounds and biological activities of Tunisian propolis. *LWT.* 2019;111:328-336. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.05.044.
  67. Cavalaro RI, Fabricio LFF, Vieira TMFDS. Ultrasound-Assisted Extraction of Antioxidants from *Baccharis dracunculifolia* and Green Propolis. *Processes.* 2020;8(12):1530. DOI: 10.3390/pr8121530.
  68. Luján MDRM, Reséndez AM, Barrón GSG, Carrillo JLR, Inungaray MLC. Antibacterial activity and phenolic content of propolis extracts obtained by different extraction methods. *Nova Scientia.* 2018;10(20):397-412. DOI: 10.21640/ns.v10i20.1392.
  69. Ikeda NY. Evaluation of the residues from the ethanolic extraction of organic propolis as a source of biological compounds. [Tese]. Piracicabana: Universidade de São Paulo. 2020.
  70. Hames-Kocabas EE, Demirci B, Uzel A, Demirci F. Volatile composition of Anatolian propolis by headspace-solid-phase microextraction (HS-SPME), antimicrobial activity against food contaminants and antioxidant activity. *J. Med. Plant Res.* 2013;7(28):2140-2149. DOI: 10.5897/JMPR2013.4470.
  71. Olivares IRB. 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]. São Carlos: Universidade de São Paulo. 2006.72. Oliveira SC, Andolfatto S. Otimização do processo de extração de compostos bioativos da própolis produzida por abelhas geneticamente modificadas. [Trabalho de Conclusão de Curso]. Pato Branco: Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2014.
  73. Machado BAS, Silva RPD, Barreto GDA, Costa SS, Silva DFD, Brandao HN, Rocha JLC, Dellagostin OA, Henriques JAP, Umsza-Guez MA, Padilha FF. 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.* 2016;11(1). DOI: 10.1371/journal.pone.0145954.
  74. Devequi-Nunes D, Machado BAS, Barreto GDA, Silva JR, Silva DF, Rocha JLC, Brandão HN, Borges VM, Umsza-Guez MA. Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis

- through conventional methods and supercritical extraction. *PLoS One*. 2018;13(12). DOI: 10.1371/journal.pone.0207676.
75. Sun C, Wu Z, Wang Z, Zhang H. Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of Beijing propolis extracts. *Evid.-based Complement. Altern. Med.* 2015;2015. DOI: 10.1155/2015/595393.
  76. Mello BCBS, Hubinger MD. Antioxidant activity and polyphenol contents in Brazilian green propolis extracts prepared with the use of ethanol and water as solvents in different pH values. *Int. J. Food Sci.* 2012;47(12):2510-2518. DOI: 10.1155/2015/595393.
  77. Sousa JPLM, Pires LO, Prudêncio ER, Santos RF, Sant'Ana LD, Ferreira DAS, Castro RN. Estudo químico e potencial antimicrobiano da própolis brasileira produzida por diferentes espécies de abelhas. *Rev. Virtual Química*. 2019;11(5):1480-1497.
  78. Bucio-Villalobos CM, Martínez-Jaime OA. Actividad antibacteriana de un extracto acuoso de propóleo del municipio de Irapuato, Guanajuato, México. *Rev. Agron. Mesoam.* 2017;28(1):223-227. DOI: 10.15517/am.v28i1.24253.
  79. García LRP, Martínez Galán JP, García Pajón CM, Gil González JH, Durango Restrepo DL. Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleo en el Municipio de La Unión (Antioquia, Colombia). *Rev. Fac. Nacional Agro Medellín*. 2010;63(1):5373-5383.
  80. 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.
  81. 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.
  82. Shahbaz M, Zahoor T, Arshad R, Rafiq S, Qaisrani TB, Liaqat A, Javed MS, Akbar Z, Raza N, Murtaza S, Farooq U, Imran M, El-Ghorab A, Bacha U, Ahmad I, Mehmood Z, Muzaffar R, Gondal TA, Shah SAM, Shah AS, Akhtar M, Afzal MI, Umer M.. Chemical profiling, HPLC characterization and in vitro antioxidant potential of Pakistani propolis collected from peripheral region of Faisalabad. *Cell. Mol. Biol.* 2021;67(1):40-44. DOI: 10.14715/cmb/2021.67.1.6.
  83. Osés SM, Pascual-Maté A, Fernández-Muiño MA, López-Díaz TM, Sancho MT. Bioactive properties of honey with propolis. *Food Chem.* 2016;196:1215-1223. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.10.050.
  84. Andrade JKS, Denadai M, Andrade GRS, Nascimento CC, Barbosa PF, Jesus MS, Narain N. Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown, green and red propolis. *Int. Food Res. J.* 2018;109:278-287. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.04.048.85. Nori MP, Favaro-Trindade CS, Alencar SM, Thomazini M, Balieiro JCC, Castillo CJC. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT.* 2011;44(2):429-435. DOI: 10.1016/j.lwt.2010.09.010.
  86. Tiveron AP. Caracterização e identificação de compostos com atividade antioxidante de própolis orgânica brasileira. [Tese]. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP. 2015.
  87. Nascimento TG, Redondo GD, Abreu CTA, Silva VC, Lira GM, Grillo LAM, Conceição MM, Freitas JD, Souza JS, Araújo Júnior JX, Basílio-Júnior ID. Modified release microcapsules loaded with red propolis extract obtained by spray-dryer technique. *Int. Food Res. J.* 2019;138(5):3559-3569. DOI: 10.1007/s10973-019-08287-5.
  88. Nascimento TG, Silva PF, Azevedo LF, Rocha LG, Porto ICCP, Moura TFAL, Basílio-Júnior ID, Grillo LAM, Dornelas CB, Fonseca EJS, Oliveira EJ, Zhang AT, Watson DG. Polymeric Nanoparticles of Brazilian red propolis extract: preparation, characterization, antioxidant and leishmanicidal activity. *Nanoscale Res. Lett.* 2016;11(1):1-16. DOI: 10.1186/s11671-016-1517-3.89. Azevedo LF, Silva PF, Brandão MP, Rocha LG, Aragão CFS, Silva SAS, Nascimento TG. Polymeric nanoparticle systems loaded with red propolis extract: a comparative study of the encapsulating systems, PCL-Pluronic versus Eudragit® E100-Pluronic. *J. Apic. Res.* 2018;57(2):255-270. DOI: 10.1080/00218839.2017.1412878.
  90. Shubharani R, Mahesh M, Yogananda Murti V. Biosynthesis and characterization, antioxidant and antimicrobial activities of selenium nanoparticles from ethanol extract of Bee Propolis. *J. Nanomed. Nanotechnol.* 2019;10(1). DOI: 10.4172/2157-7439.1000522.
  91. Permana AD, Utami RN, Courtenay AJ, Manggau MA, Donnelly RF, Rahman L. 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. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 2020;205: 111846. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2020.111846.
  92. Silva FC, Fonseca CR, Alencar SM, Thomazini M, Balieiro JCC, Pittia P, Favaro-Trindade CS. 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 Bioprod. Process.* 2013;91(1):8-36. DOI: 10.1016/j.fbp.2012.08.006.
93. Irigoiti Y, Yamul DK, Navarro AS. Co-crystallized sucrose with propolis extract as a food ingredient: Powder characterization and antioxidant stability. *LWT.* 2021;143:111164. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111164.
94. Salas A, Zampini IC, Maldonado L, Isla MI. Development of a bioproduct for medicinal use with extracts of Zuccagnia-type propolis. *Nat Prod Commun.* 2018;13(2):1934578X1801300214. DOI: 10.1177/1934578X1801300214.
95. Correa WR, Lopez BGC, Prado SCD, Cunha IBDS, Sawaya ACHF, Salvador MJ. ESI-MS fingerprinting of residues of green propolis, and evaluation of their antioxidant and antimicrobial activities. *Apic. Res.* 2016;55(1):1-7. DOI: 10.1080/00218839.2016.1196014.