UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL
COORDENAÇÃO DO CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

VALQUIRIA SEHNEM BARBOSA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE MEL, PRÓPOLIS E PÓLEN DE ABELHAS JATAÍ

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TOLEDO, PR
2021

VALQUIRIA SEHNEM BARBOSA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE MEL, PRÓPOLIS E PÓLEN DE ABELHAS JATAÍ

Trabalho de conclusão de Curso apresentado a Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos (COPEQ) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Toledo, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Orientadora: Drª. Solange Maria Cottica

Coorientadora: Drª. Ortência L. G. da Silva Nunes

TOLEDO, PR
2021

4.0 Internacional

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

VALQUIRIA SEHNEM BARBOSA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE MEL, PRÓPOLIS E PÓLEN DE ABELHAS JATAÍ

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, câmpus Toledo, como parte das exigências para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Aprovado em 30, de novembro de 2021.

Banca examinadora

_____

Prof[a] Dr[a] Solange Maria Cottica
UTFPR, câmpus Toledo
Orientadora

_____

Dr[a] Ortência L. G. da Silva Nunes
UTFPR, câmpus Toledo
Coorientadora

_____

Dr[a] Eliza Mariane Rotta
Membro externo
Avaliador

_____

Profa. Dr[a] Polyana Batoqui França Biondo
Membro externo
Avaliador

OBS: A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso de Tecnologia em Processos Químicos.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer e dedicar o presente trabalho aos meus professores, que ao logo do curso não mediram esforços para transmitir seus conhecimentos para que eu pudesse chegar até aqui.

Agradeço também ao meu esposo César, e ao meu filho Guilherme, que compreenderam minha ausência em diversos momentos. Aos meus pais João e Veronica por acreditarem em mim e me encorajarem.

À minha orientadora Drª. Solange Maria Cottica que me deu total suporte e que apesar de todos os contratempos enfrentados durante o desenvolvimento do trabalho, soube me tranquilizar e me mostrar que eu era capaz.

À minha Coorientadora Drª. Ortência da Silva Nunes que me acompanhou durante a realização das análises, compartilhando suas experiências e conhecimentos.

Aos meus colegas do trabalho que diversas vezes sanaram minhas dúvidas e me auxiliaram compartilhando ideias e conhecimentos.

Por fim, agradeço a Deus por ter me concedido saúde, força e disposição para chegar até aqui e concluir o sonho da graduação.

RESUMO

BARBOSA, Valquiria Sehnem. **Avaliação da atividade antioxidante de mel, própolis e pólen de abelhas Jataí.** Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Tecnologia em processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR. Toledo, 2021.

Com o aumento de diversas doenças causadas pela ação de radicais livres torna-se necessário o conhecimento das propriedades antioxidantes da dieta da população, visando o combate e/ou amenização dos efeitos causados por esses radicais. Conforme estudos realizados, o mel, a própolis e o pólen de abelhas de várias espécies possui um grande potencial antioxidante, no entanto, os da espécie de abelha Jataí não são muito realizados. O presente trabalho visa avaliar a atividade antioxidante de mel, própolis e pólen de abelhas Jataí através dos métodos de Captura do radical livre ABTS, DPPH, e também pelos métodos de compostos fenólicos totais e teor de flavonoides. Os resultados obtidos no presente trabalho apresentam para o pólen e para a própolis uma grande atividade antioxidante, já o mel apresentou resultados menores, o que era esperado de acordo com a literatura. Com isso, espera-se que o consumo e uso desses produtos aumentem, devido aos grandes benefícios que oferecem a saúde.

Palavras-chave: produtos apícolas, abelha sem ferrão, compostos bioativos.

ABSTRACT

BARBOSA, Valquiria Sehnem. **Evaluation of the antioxidant activity of honey, propolis and pollen from Jataí bees.** Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Tecnologia em processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR. Toledo, 2021.

With the increase in various diseases caused by the action of free radicals, it is necessary to know the antioxidant properties of the population's diet, aiming at combating and/or mitigating the effects caused by these radicals. According to studies, honey, propolis and bee pollen from various species have a great antioxidant potential, however, those from the bee specie named Jataí are not widely used. The present work aims to evaluate the antioxidant activity of honey, propolis and pollen from Jataí bees through the ABTS free radical capture methods, DPPH, and also through the methods of total phenolic compounds and flavonoid content. The results obtained in the present work showed that pollen and propolis have a great antioxidant activity, whereas honey presented lower results, which was expected according to the literature. Thus, it is expected that the consumption and use of these products increase, due to the great benefits they offer to health.

Keywords: Bee products, stingless bees, bioactive compounds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Formação do radical $ABTS^{*+}$ estável com o Persulfato de potássio e reação com um antioxidante. 19
Figura 2 – Estrutura química do radical DPPH e reação de estabilização com um antioxidante. 19
Figura 3 – Correlação entre as técnicas. 29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Equações da reta com R^2 obtidas através de curvas de calibração das análises de DPPH• ABTS•+, Compostos Fenólicos Totais e Teor de Flavonoides dos extratos de mel, pólen apícola e própolis. 25
Tabela 2 - Valores obtidos nas análises de DPPH•, ABTS•+, Compostos Fenólicos Totais e Teor de Flavonoides dos extratos de mel, pólen apícola e própolis. 25

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

DPPH 2,2 – difenil – 1 – picril – hidrazila

ABTS [2,2' – azinobis – (3-etilbenzotiazolin – 6 – ácido – sulfônico)]

DNA Ácido Desoxirribonucleico

TEAC Atividade antioxidante equivalente a Trolox

Rpm Rotações por minuto

PTFE Politetrafluoretileno

ET Equivalente Trolox

EAG Equivalente Ácido Gálico

EQ Equivalente Quercetina

Dp Desvio Padrão

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 12
2 OBJETIVOS 13
2.1 OBJETIVO GERAL 13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 13
3 JUSTIFICATIVA 14
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 15
4.1 ESPÉCIE *TETRAGONISCA ANGUSTULA LATREILLE* (JATAÍ) 15
4.1.1 Mel 15
4.1.2 Própolis 16
4.1.3 Pólen apícola 17
4.2 ANTIOXIDANTES 17
4.3 CAPTURA DO RADICAL LIVRE ABTS [2,2'-AZINOBIS-(3-ETILBENZOTIAZOLIN-6-ÁCIDO SULFÔNICO)] 18
4.4 CAPACIDADE DE CAPTURA DO RADICAL 2,2-DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA (DPPH$^{\bullet}$) 19
4.5 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS 20
5 MATERIAIS E MÉTODOS 21
5.1 AMOSTRAGEM 21
5.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO 21
5.3 CAPACIDADE DE CAPTURA DO RADICAL 2,2-DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA (DPPH$^{\bullet}$) 21
5.4 CAPTURA DO RADICAL LIVRE ABTS [2,2'-AZINOBIS-(3-ETILBENZOTIAZOLIN-6-ÁCIDO SULFÔNICO)] 22
5.5 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS 23
5.6 TEOR DE FLAVONÓIDES 23
5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA 24
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES 25
7 CONSIDERAÇOES FINAIS 30
8 REFERÊNCIAS 31

1 INTRODUÇÃO

No Brasil a criação de abelhas é dividida em duas formas diferentes, a Apicultura e a Meliponicultura. Na Apicultura ocorre o manejo das abelhas com ferrão, onde os padrões de produção são bem definidos. Na Meliponicultura ocorre o manejo de abelhas sem ferrão que não possuem um padrão pré-definido (NOGUEIRA NETO, 1997).

A abelha *(Tetragonisca angustula* Latreille*)* conhecida popularmente como Jataí é uma espécie de pequeno porte, pertencente à espécie dos meliponídeos (abelhas sem ferrão), com distribuição geográfica uniforme, ocorrendo naturalmente em vários estados brasileiros, sendo a mais criada no estado de São Paulo. A produção de mel desta espécie em uma colônia forte pode chegar até 1,5 L de mel/ano (NOGUEIRA NETO, 1997).

O mel é um alimento que vem sendo utilizado há milhares de anos com uma composição de açúcares de fácil digestão que auxilia no equilíbrio do processo biológico do organismo humano, além de ser uma importante fonte de energia. É produzido por abelhas produtoras a partir da desidratação e transformação do néctar de flores nativas (NOGUEIRA NETO, 1997).

O ninho dessa espécie de abelha é composto por uma única entrada, formada por resinas em forma de funil. As fendas e frestas existentes no ninho são cobertas por uma substância resinosa, denominada própolis (NOGUEIRA NETO, 1997).

Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2001), o pólen apícola é o resultado da aglutinação do pólen das flores, realizado pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares.

O conhecimento da composição dos alimentos em compostos antioxidantes facilita a identificação da relação entre a dieta e a prevalência de enfermidades crônicas. Viabiliza a definição da magnitude das inadequações dietéticas e oferece subsídios para a educação alimentar e para o estabelecimento de metas e guias alimentares que promovam estilos de vida mais saudáveis. Além disso, substâncias que possuem capacidade antioxidante podem ser empregadas na produção de alimentos, cosméticos ou até mesmo nutracêuticas (RIBEIRO, 2006).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a atividade antioxidante de amostras de mel, própolis e pólen de abelhas Jataí.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a atividade antioxidante de mel, própolis e pólen de abelhas Jataí pelos métodos:
    - Capacidade de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH);
    - Captura do radical livre $ABTS^{\circ+}$ [2,2'-azinobis - (3-etilbenzotiazolin-6-ácido-sulfônico)];
    - Compostos Fenólicos totais;
    - Determinar o teor de flavonóides.
- Comparar a atividade antioxidante dos produtos apícolas através de análise estatística.

3 JUSTIFICATIVA

O mel de abelha tem apresentado uma crescente demanda de mercado nos últimos anos (LOPES, 2019). Apesar de não serem muito estudadas as propriedades de atividade antioxidante de mel, própolis e pólen de abelhas da espécie *Tetragonisca angustula Latreille* (Jataí), há artigos que demonstram através de resultados positivos a atividade antioxidante de mel e própolis de abelhas Jataí (ROÓS *et al.,* 2018; LOPES, 2019; BILIBIU *et al.,* 2021).

A produção de mel dessa espécie de abelha é menor quando comparado com abelhas africanizadas. No entanto, as mesmas são de fácil manejo, pois não possuem ferrão, e adapta-se em diferentes ambientes, o que se torna importante e viável um estudo de suas bioatividades, se tratando de produtos naturais, de fácil acesso e que já estão introduzidos na alimentação de muitas famílias.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 ESPÉCIE *TETRAGONISCA ANGUSTULA LATREILLE* (JATAÍ)

A espécie de abelha *Tetragonisca angustula* é denominada abelha sem ferrão. Pertence à família dos meliponídeos que ocupam regiões de clima tropical e temperado subtropical do planeta. Constituem um grupo de abelhas com aproximadamente 400 espécies pertencentes à cerca de 50 gêneros (NOGUEIRA NETO, 1997).

A abelha *(Tetragonisca angustula* Latreille*)* conhecida popularmente como Jataí é uma espécie de pequeno porte, com distribuição geográfica uniforme, ocorrendo naturalmente em vários estados brasileiros, com maior incidência no estado de São Paulo. É uma espécie que se adapta muito bem em relação ao hábito de formar ninhos, pois conseguem ninharem em vários locais diferentes e desenvolvem-se em ambientes desde cidades grandes a florestas virgens (NOGUEIRA NETO, 1997).

4.1.1 Mel

A legislação brasileira (BRASIL, 2000) define o mel como um produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transforma, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia. O mel é caracterizado como um produto viscoso, com um ótimo sabor, adocicado, com alto valor nutricional e medicinal, atribuindo-lhe características como: resistência imunológica, antibacteriano, anti-inflamatório, ação antioxidante, analgésico, sedativo e expectorante (AROUCHA *et al.,*2008).

Ele é classificado de acordo com a forma que o favo é extraído. Pode ser um mel escorrido, prensado ou centrifugado, além do estado de apresentação podendo ser líquido, cristalizado ou semi-cristalizado, mel em favos, mel em pedaços de favo ou mel filtrado (BRASIL, 2000).

O mel produzido pelas abelhas jataí é considerado de ótima qualidade por se tratar de um mel fino, suave, com um sabor levemente azedo (GODOI, 1989). Sua composição depende das características do néctar da espécie vegetal de onde é retirado o pólen, e da espécie da abelha produtora (WHITE JÚNIOR, 1978). É composto de uma solução concentrada de açúcares como glicose e frutose. Contendo uma mistura complexa de hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, substâncias aromáticas, pigmentos, grãos de pólen e, ocasionalmente, a cera de abelhas. A coloração pode variar de quase incolor a parda-escura, e o sabor e aroma variam de acordo com as condições regionais onde esse mel foi produzido (BRASIL, 2000).

O mel derivado da Meliponicultura não possui um padrão pré-definido de qualidade em relação à composição, o que dificulta a comparação de resultados obtida para a atividade antioxidante desse produto (NOGUEIRA NETO, 1997).

De acordo com estudos realizados, o mel apresenta também atividade antioxidante, já que possue em sua composição alguns compostos, como ácidos fenólicos, flavonoides, ácido ascórbico, ácidos orgânicos (GHELDOF, WANG e ENGESETH, 2002).

A composição física e química desse produto varia de acordo com os fatores climáticos, estágio de maturação, tipo de flora e a espécie da abelha produtora (SILVA, QUEIROZ, e FIGUEIREDO, 2004). Em geral, o mel é composto por água, inúmeros minerais como K, Na, Ca, Mg, Fe, Zn, e açúcares como frutose, glicose, sacarose e maltose (WHITER JUNIOR,1978).

4.1.2 Própolis

A própolis é formada pela mistura de secreções de árvores e plantas coletadas por abelhas com pólen e enzimas, com sua composição definida pela origem geográfica e botânica, estação de coleta e condições climáticas. Basicamente é composta por 50 % de resinas de plantas, 30 % de ceras, 10 % de óleos essenciais e 5 % de grão de pólen, além de minerais como Mn, Cu, Ca, Al, Na, Fe, Zn, Mg e K e algumas vitaminas como A, B1, B2, B6, C e E. (VASILAKI *et al.*,2019).

A própolis vem sendo utilizada há milhares de anos por possuir atividades biológicas, e também na medicina tradicional desde a antiguidade, atuando como

antioxidante, antiinflamatório, antibacteriana, antiviral, antifúngico, função anestésica, tratamento de problemas de pele, antiulceroso e estimuladora do sistema imunológico (LIMA *et al.*,2009).

Estudos realizados por Bilibiu *et al.,* (2021), a própolis de abelha Jataí apresenta um grande potêncial antioxidante. Na composição da própolis destacam-se os flavonoides e ácidos fenólicos, responsáveis por atribuírem efeitos terapêuticos (KUMAZAWA, HAMASAKA, e NAKAYAMA, 2004).

4.1.3 Pólen apícola

O pólen é o elemento masculino das flores e, quando maduras, abrem-se para permitirem o acesso aos órgãos de pólen que são recolhidos e transportados pelas abelhas (LENGLER, 1999).

Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2001), o pólen apícola é o resultado da aglutinação do pólen das flores realizada pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares. No pólen são encontradas proteínas formadas por aminoácidos essenciais, carboidratos, lipídeos, sais minerais, vitaminas B, C, D, E, H e várias enzimas (SILVA, 1998).

4.2 ANTIOXIDANTES

Antioxidantes podem ser definidos como moléculas capazes de prevenir ou retardar a oxidação de outras moléculas, comumente substratos biológicos como lipídios, proteínas ou ácidos nucléicos. A oxidação destes substratos pode acontecer por meio de duas espécies reativas: os radicais livres e aqueles, sem radicais livres, cuja reatividade é suficiente para induzir o processo oxidativo sobre o substrato (PEREZ e AGUILAR, 2013).

Os antioxidantes podem ser classificados de acordo com suas características bioquímicas, funções e também o local onde desenvolvem sua atividade. De acordo com Pérez e Aguiar (2013) os antioxidantes são classificados em três tipos:

Primário: evita a formação de novos radicais livres, convertendo-os assim em moléculas menos nocivas e danosas às células, antes que elas possam reagir ou impedir a formação de radicais livres de outras moléculas (por exemplo, proteínas que se ligam a metais, ferritina, transferrina e ceruloplasmina), limitando a disponibilidade de ferro necessário para formar o radical $^{\cdot}OH^{-}$.

Secundário: são aqueles que capturam os radicais livres, prevenindo reações em cadeia (vitamina E ou α-tocoferol, vitamina C ou ácido ascórbico, β-caroteno, ácido úrico, bilirrubina, albumina, ubiquinol-10, metionina).
Terciário: estes, por sua vez, reparam os danos causados por radicais livres das biomoléculas (por exemplo, enzimas de reparo de DNA e metionina sulfóxido redutase).

Mesmo possuindo alto valor benéfico ao corpo humano, a maioria dos organismos possui uma complexa rede de metabólitos antioxidantes e enzimas que trabalham juntas para prevenir o dano oxidativo sobre os componentes das células, como o DNA, proteínas e lipídios (DEVASAGAYAM *et al.,* 2004).

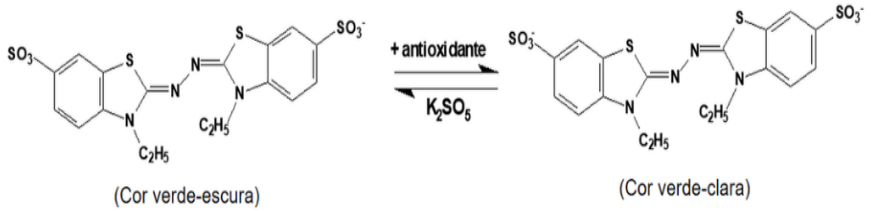
A avaliação da atividade antioxidante pode ocorrer pela utilização de diversos métodos e técnicas instrumentais (SANCHEZ, 2002). Dificilmente existirá um método simples e único para avaliar essa atividade de forma precisa e quantitativamente, já que há diferentes tipos de radicais livres e formas variadas de atuação nos organismos vivos (DAVID *et al.*, 2010).

4.3 CAPTURA DO RADICAL LIVRE ABTS [2,2'-AZINOBIS-(3-ETILBENZOTIAZOLIN-6-ÁCIDO SULFÔNICO)]

O radical $ABTS^{\bullet+}$ é produzido a partir de um percursor, o ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-ácido-sulfônico). O radical $ABTS^{\bullet+}$ é um composto cromóforo estável, solúvel em água. (MILLER *et al.,* 1993).

No método descrito por Re *et al*., 1999, a determinação da atividade antioxidante é realizada pela descoloração do radical $ABTS^{\bullet+}$ ao reagir com os antioxidantes presentes na amostra, com uma redução do radical, podendo ser medida a uma absorbância máxima em 734 nm (Figura 1). A comparação da absorbância do radical $ABTS^{\bullet+}$ e a absorbância de um antioxidante é realizada através da atividade de um antioxidante sintético Trolox, onde os resultados são expressos em μMol de Trolox $TEAC.g^{-1}$ (atividade antioxidante equivalente Trolox (VEDANA,2008).

Figura 1 – Formação do radical ABTS^{*+} estável com o Persulfato de potássio e reação com um antioxidante.



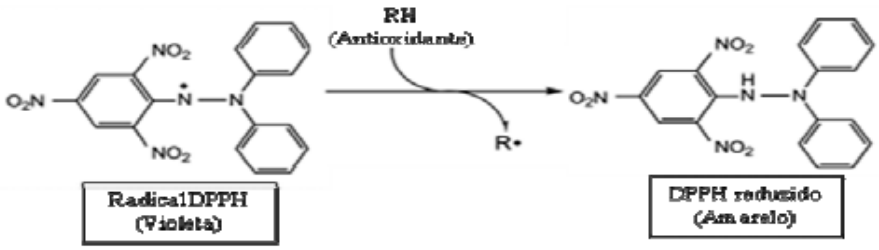
Fonte: Huang, Ou e Prior (2005)

4.4 CAPACIDADE DE CAPTURA DO RADICAL 2,2-DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA (DPPH•)

O DPPH é um método químico, utilizado para a determinação da capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres. É considerado um método rápido, prático e estável, sendo um dos mais utilizados (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

O DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) é um radical de nitrogênio orgânico, estável quimicamente, de coloração violeta, com absorção na faixa de 515-520 nm. Na presença de um doador de hidrogênio ou elétron ocorre o decréscimo da absorbância e há uma descoloração da solução com o radical, tornando-se amarela (Figura 2) (BRAND-WILLIANS, CUVELIER, e BERSET, 1995).

Figura 2 – Estrutura química do radical DPPH e reação de estabilização com um antioxidante.



Fonte: Moon e Shibamoto (2009).

4.5 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Os compostos fenólicos pertencem a classe dos fitoquímicos alimentares, com, pelo menos, um anel aromático unido a uma ou mais hidroxila (KARAKAYA, 2004). São considerados os antioxidantes mais ativos nos vegetais, já que são encontrados com maior frequência e maior quantidade (BIANCHI e ANTUNES 1999).

Os compostos fenólicos atuam de várias formas como antioxidantes, no combate a radicais livres, quelando metais de transição, como o Fe^{2+} e o Cu^{+}, interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica, alterando o potencial redox do meio e reparando lesão de moléculas atacadas por radicais livres (PODSEDEK, 2012; KYNGMI e EBELER, 2008). Os compostos fenólicos são encontrados em várias partes das plantas, no entanto, em maior quantidade nas frutas, hortaliças e derivados (LIU, 2005).

Os flavonoides é um grupo de compostos fenólicos que podem se apresentar de várias formas como flavonóis, flavonas, flavononas, catequinas, antocianinas, isoflavonas e chalconas, presentes em frutas e vegetais (GRAHAM, 1992).

Os não flavonoides compreendem os derivados de ácidos hidroxicinâmico (ésteres dos ácidos caféico, cumário e felúrico) encontrados em frutas como pêra, maçã, damasco e cereja e derivados de ácidos hidroxibenzóico (ácido salicílico, gálico, elágico) encontrados em frutas como morango, uva, laranja e limão (BELITZ, GROSCH e SCHIEBERLE 2004) e seus potenciais antioxidantes consistem na posição dos grupamentos hidroxilas (GRAHAM, 1992).

A determinação de compostos fenólicos é realizada por técnicas que utilizam o reagente Folin-Ciocalteu. O reagente consiste na mistura de sais de tungstato de sódio e molibdato de sódio em meio de ácido clorídrico e ácido fosfórico, o que atribui a coloração amarela ao reagente (BOROSKI, *et al.*,2015). O método baseia-se na redução de grupos fenólicos, e a quantidade de hidroxilas ou grupos potencialmente oxidáveis controla a quantidade de cor formada, com absorbância na faixa de 725 nm. As moléculas que são reduzidas possuem coloração azul, e as não reduzidas colorações amarela (BOROSKI, *et al.*,2015).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 AMOSTRAGEM

As amostras de mel, própolis e pólen foram coletadas na cidade de Cascavel-PR de uma colmeia de abelhas Jataí e armazenadas em embalagem a vácuo, sobre refrigeração, até posteriores análises.

5.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO

Para a obtenção do extrato bruto de mel, própolis e pólen utilizou-se 1 g para um volume de 25 mL, perfazendo a concentração de 40 mg mL^{-1} de etanol (P.A) 70 %. O material foi levado à incubadora refrigerada de agitação orbital (modelo-6430) por 4 horas com agitação constante e temperatura de 40 ºC. Após o período de extração o extrato bruto foi centrifugado a 4000 rpm em centrifuga (CT- 0603) durante 5 minutos, e, filtrado em membrana de PTFE 0,22 µm hidrofóbica. Em seguida, realizou-se a densidade dos extratos e do etanol 70%, pelo método do picnomêtro.

5.3 CAPACIDADE DE CAPTURA DO RADICAL 2,2-DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA ($DPPH^{\bullet}$)

Para a determinação da atividade antioxidante do mel, própolis e pólen de abelhas jataí, utilizou-se o método descrito por Boroski, *et al.*, (2015). Para o preparo da solução de $DPPH^{\bullet}$ 0,1192 mmol L^{-1}, dissolveu-se 3,8 mg de $DPPH^{\bullet}$ (Sigma-Aldrich) em álcool etílico (P.A) e completou-se o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Em seguida, armazenou-se a solução em frasco de vidro âmbar. A solução $DPPH^{\bullet}$ foi preparada no dia em que a análise foi realizada.

Para o preparo da curva de calibração utilizou-se o padrão Trolox (Sigma-Aldrich) em uma concentração de 2000 µmol L^{-1}, onde foram diluídas concentrações de 100 µMol L^{-1} a 750 µMol L^{-1}, utilizando etanol (P.A) 70 %. Em seguida, pipetou-se 100 µL de cada concentração para tubo falcon de 15 mL, em triplicata, e adicionou-se uma alíquota de 3 mL da solução de $DPPH^{*}$ (0,1192 mmol L^{-1}), homogeneizando

e mantendo em repouso em temperatura ambiente e protegido da luz por 30 minutos e realizando-se a leitura em espectrofotômetro (T80-UV/VIS SPECTROMETER) em 517 nm.

A partir das soluções de extrato de mel, própolis (fator diluição: 1) e pólen (fator diluição 4), pipetou-se 100 µL para tubo Falcon de 15 mL e adicionou-se uma alíquota de 3,0 mL de solução de DPPH (0,1192 mmol L^{-1}), homogeneizando e mantendo em repouso em temperatura ambiente e protegido da luz por 30 minutos. Em seguida, realizou-se a leitura espectrofotométrica em 517 nm, utilizando etanol 70 % como branco. As amostras foram preparadas em triplicata.

Pela curva de calibração e cálculo de regressão linear, foi possível obter a equação da reta. Com as absorbâncias dos extratos obtidas na análise de DPPH, foram obtidos os resultados de concentração, expressos em µMol ET g^{-1} de extrato.

5.4 CAPTURA DO RADICAL LIVRE ABTS [2,2'-AZINOBIS-(3-ETILBENZOTIAZOLIN-6-ÁCIDO SULFÔNICO)]

O método utilizado para a captura do radical livre $ABTS^{\bullet+}$, foi descrito por BOROSKI *et al*., (2015), onde preparou-se uma solução aquosa estoque de ABTS (Sigma Aldrich) 7,0 mmol L^{-1}, e uma solução de Persulfato de potássio (P.A) a 140 mmol L^{-1} em água destilada.

Para o preparo do radical $ABTS^{\bullet+}$ adicionou-se 5 mL da solução aquosa estoque de $ABTS^{\bullet+}$ 7,0 mmol L^{-1} com 88 µL de solução Persulfato de potássio a 140 mmol L^{-1}, mantida em repouso, protegida da luz, a temperatura ambiente por 16 horas antes da análise.

Após as 16 horas diluiu-se 1 mL desta mistura em 55 mL de álcool etílico (HPLC), e leu-se em espectrofotômetro a 734 nm, ajustando a solução até que se obteve uma absorbância de 0,700 nm.

A curva de calibração foi preparada utilizando o padrão Trolox (Sigma-Aldrich). A partir de uma concentração inicial de 2000 µmol L^{-1} realizou-se diluições até obterem-se concentrações que variam de 0 a 2000 µmol L^{-1}.

Pipetou-se uma alíquota de 30 µL de cada concentração descrita acima e adicionaram-se 3,0 mL da solução radical $ABTS^{\bullet+}$, homogeneizou-se e deixou em repouso durante 7 minutos, realizando em seguida a leitura espectrofotométrica em 734 nm utilizando etanol 70 % como branco.

O mesmo procedimento foi realizado para os extratos (fator diluição: 2), com o preparo das amostras em triplicata.

Realizaram-se os cálculos de regressão linear a partir da equação da reta, onde os resultados foram expressos em µMol ET g^{-1} de extrato.

5.5 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Para a análise de compostos fenólicos totais utilizou-se o método adaptado por Boroski, *et al.,* (2015). Preparou-se uma solução reagente de Folin-Ciocalteu (Grau analítico) com água destilada 1:1 (v/v) sob proteção da luz e uma solução saturada de carbonado de sódio (P.A) saturada.

O preparo da curva de calibração foi realizado utilizando como padrão o Ácido Gálico (Sigma-Aldrich) com uma concentração inicial de 200 mg L^{-1}, onde realizou-se diluições afim de obter concentrações variando de 0 a 150 mg L^{-1}.

Em seguida transferiu-se uma alíquota de 250 µL de cada concentração descrita acima para tubo falcon de 15 mL e adicionou-se 250 µL do reagente de Folin-Ciocalteu com água destilada 1:1 (v/v), 500 µL da solução saturada de carbonato de sódio e 4,0 mL de água destilada, agitaram-se e manteve-se em repouso protegido da luz e em repouso durante 25 minutos. Em seguida, centrifugou-se em 3000 rpm por 10 minutos, realizando então a leitura espectrofotométrica em 725 nm, utilizando etanol 70 % como branco.

O mesmo procedimento foi realizado para os extratos de mel e própolis (fator diluição: 2) e pólen (fator diluição:4), com o preparo das amostras em triplicata.

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pela regressão linear da curva de calibração, e expresso como mg de equivalente ácido gálico (EAG) g^{-1} de extrato.

5.6 TEOR DE FLAVONÓIDES

Conforme descrito por Boroski *et al.*, (2015) para curva de calibração preparou-se uma solução de Quercetina (Sigma-Aldrich) em uma concentração inicial de 2000 mg L^{-1}. Em seguida, realizaram-se diluições até as concentrações de 10 mg L^{-1} a 100 mg L^{-1}. Destas soluções, pipetaram-se 500 µL para tubo falcon de 15 mL e adicionaram-se 250 µL $AlCl_3$ (P.A) 5 % (m/v em álcool etílico (P.A)) e 4,25

mL de álcool etílico (P.A) e mantido em repouso por 30 minutos, protegido da luz e em temperatura ambiente. Em seguida realizou-se a leitura espectrofotométrica em 425 nm utilizando etanol 70 % como branco.

A partir dos extratos (fator diluição: 1), o processo de análise das amostras foi igual àquele para o desenvolvimento da curva de calibração. A análise foi realizada em triplicata.

A partir de regressão linear obtida com a curva de calibração, obteve-se o teor de flavonóides presente na amostra, expresso em mg de equivalente de Quercetina (EQ) g^{-1} de amostra de extrato.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram apresentados como n = 3 ± DP. A análise estatística foi realizada usando PAST: Paleontological Statistics Software (HAMMER et al., 2001). Um modelo linear geral, ANOVA unilateral, foi usado para determinar diferenças significativas ($P \leq 0,05$) entre as amostras. A comparação entre as médias foi feita pelo teste de Tukey.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na tabela 1 estão apresentados os valores de equação da reta com o R^2 obtidos através da construção das curvas de calibração para cada método de análise.

Tabela 1 - Equações da reta com R^2 obtidas através de curvas de calibração das análises de DPPH• ABTS•+, Compostos Fenólicos Totais e Teor de Flavonoides dos extratos de mel, pólen apícola e própolis.

Método de análise	**Equação da reta**	**R^2**
DPPH•	y= -0,0008x + 0,8078	0,9994
ABTS•+	y= -0,0001x + 06576	0,9935
Compostos Fenólicos Totais	y= 0,0056x + 0,0245	0,9981
Teor de Flavonóides	y= 0,0063x + 0,0045	0,9999

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Os valores obtidos para os extratos nos diferentes métodos analisados estão descritos em forma de média, conforme demostrado na tabela 2.

Tabela 2 - Valores obtidos nas análises de DPPH•, ABTS•+, Compostos Fenólicos Totais e Teor de Flavonoides dos extratos de mel, pólen apícola e própolis.

Extrato	**DPPH• (µMol ET g^{-1} de ext.)**	**ABTS•+ (µMol ET g^{-1} de ext.)**	**Comp. Fenólicos Totais (mg EAG g^{-1} de ext.)**	**Teor de Flavonoides (mg EQ g^{-1} de ext.)**
Mel	$3,50 \pm 0,06^b$	$31,34 \pm 0,33^b$	$1,75 \pm 0,14^b$	$0,11 \pm 0,01^c$
Pólen	$66,18 \pm 2,90^a$	$119,65 \pm 5,66^a$	$12,25 \pm 1,42^a$	$2,59 \pm 0,33^a$
Própolis	$7,78 \pm 1,02^b$	$33,60 \pm 0,66^b$	$0,98 \pm 012^b$	$0,62 \pm 0,08^b$

* Valores apresentados como média ± desvio padrão (n=3). Letras iguais em subcrito representa a não existência de diferenças estatística ao nível de 5%.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Ramalho (2018) avaliou amostras de méis de abelha *Apis mellífera* comercializadas no sertão paraibano, e relatou um valor médio de 400,57 µmol ET 100 g de amostra, o que apresenta ser um valor muito próximo ao encontrado neste estudo, quando comparado à quantidade de atividade antioxidante por g de amostra. Essa pequena diferença, pode estar relacionada ao solvente utilizado no preparo do extrato, onde o autor utiliza um extrato aquoso para a realização da análise de DPPH.

Com relação ao pólen, Ramalho (2018) relatou ter encontrado um valor de 3311,20 µmol ET 100 g de amostra ao avaliar amostras de pólen da abelha *Apis mellífera* comercializadas no sertão paraibano, mostrando ser duas vezes menor que a média encontrada no extrato de pólen analisada neste estudo, quando comparada em g de amostra. Essa diferença pode estar relacionada ao método utilizado para a obtenção do extrato. Ramalho (2018) utiliza o mesmo solvente que este estudo, porém, com um tempo de extração menor (60 minutos), e com uma temperatura de 70 °C.

Para o extrato de própolis, Lacerda (2012) obteve um mínimo de 89,25 e um máximo de 139,00 µmol ET g de amostra quando avaliou a atividade antioxidante de própolis verde proveniente de abelhas *Apís mellifera* coletadas em várias estações do ano. O que pode justificar esse resultado muito maior ao encontrado, é a diferença na obtenção do extrato etanólico da própolis do autor, onde o mesmo utiliza uma solução de etanol 80% como solvente extrator, e um tempo de 15 minutos de banho ultrassônico.

Para ABTS•+, Sousa (2014) apresentou valores que váriam de 85,41 a 365,93 µMol ET 100 g de extrato, quando avaliou a atividade antioxidante de méis produzidos por abelhas sem ferrão. Já Lira *et al.*,(2014), ao comparar a atividade antioxidante de méis de várias espécies de abelhas, encontrou um valor médio de 89,24 µMol ET 100 g de amostra para a especie de abelha Jataí. Pode-se observar que a média encontrada para este estudo é muito maior que aos valores relatados pelos autores quando equiparados em quantidade equivalente por g de extrato/amostra. Diferença essa, que pode estar atrelada ao método de obtenção do extrato. Sousa (2014), utiliza um extrato aquoso de mel, com pH controlado, enquanto Lira *et al.*,(2014), utilizada uma solução de metanol/água (1:1) para dissolução das amostras de méis.

A média encontrada para o extrato de pólen foi muito parecido com o encontrado por Serafine (2018), com valor de 120,10 µMol ET g^{-1} de extrato. A autora relata ter utilizado amostras de pólen desidratada para o preparo do extrato, com etanol 80% a 40°C, por 40 minutos. O valor encontrado por Serafine (2018), comparado o valor do extrato de pólen de abelha Jataí é muito parecido. Mesmo utilizando pólen desidratado, com uma proporção diferente de solvente e um tempo de extração dez vezes menor é possivel observar que não houve diferença no teor de capacidade antioxidante para este método.

Ao comparar a atividade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde Salgueiro e Castro (2016), encontraram uma média de 121,74 mmol ET mg^{-1} de extrato. As autoras utilizam etanol 95% como solvente, no entanto, com um tempo muito maior de extração (48h), podendo este tempo de extração, ser responsável pela grande diferença observada quando comparado os valores em µMol por g de extrato.

Lopes (2019), relatou uma média de 79,35 mg EAG 100 g de amostra de mel, quando avaliou a capacidade antioxidante de mel de abelha Jataí. Sousa (2014) apresentou valores de 90,22 a 105,59 mg EAG 100 g de amostra ao avaliar a atividade antioxidante de abelhas Jataí. A primeira autora encontrou um valor menor ao relatado neste estudo, quando comparado a g de amostra. Resultado este, que pode estar relacionado ao solvente utilizado para o preparo do extrato, onde, a mesma solubilizou o mel em água destilada. Já os valores relatados por Sousa (2014), são mais próximos ao valor encontrado para o extrato de mel de Jataí. A autora utiliza água destilada com pH ajustado para 2, para o preparo das amostras.

Para o extrato de pólen, valores de 3,6 a 10,9 mg EAG g^{-1} foram relatados por Carpes *et al.,* (2007), ao avaliar a atividade antioxidante de pólen apícola proveniente do estado de Alagoas. O autor avaliou o teor de compostos fenólicos totais para diferentes proporções de etanol: água. Segundo ele, as proporções que se mostraram mais eficientes foram com etanol 60,70 e 80%. No entanto, os resultados obtidos foram menores quando comparados ao encontrado neste estudo. Ramalho (2018) ao avaliar a atividade antioxidante do pólen produzido por abelhas *Apís mellífera* relatou um valor médio de 267,74 mg EAG 100 g de amostra. Pode-se observar que a média obtida pelo autor é quatro vezes menor que a média relatada para o extrato de pólen de abelha Jataí, quando comparada em g de extrato. O que pode justificar essa diferença entre os resultados, pode ser o fato de que o autor, apesar de utilizar o solvente de extração na mesma proporção deste estudo, utilizou um tempo de extração menor (60 min), com uma temperatura de 70 °C.

Em 2018, Zarate *et al.,* afirmou ter encontrado valores que variam de 68 a 501 mg EAG g^{-1} de amostra para própolis. Pode-se observar que os valores relatados pelos autores são muito maiores ao que foi encontrado neste estudo. Essa diferença pode estar relacionada ao método utilizado para extração, já que os autores utilizaram etanol 80% como solvente e um tempo de extração de 48h.

Em 2014,Sousa, ao avaliar o teor de flavonoides encontrou valores que variam de 4,46 a 7,54 mg EQ 100 g, enquanto Lira *et al.*,(2014) relatou um valor médio de 5,89 mg EQ 100 g. Os valores descritos na literatura são menores, no entando, proximos dos encontrados nas amostras de mel analisada. Essa discrepância nos valores pode estar relacionada as condiçoes de extração. Sousa, utiliza no preparo do extrato água destilada com um pH ajustado para 2, enquanto Lira *et al.*, utilizou mel solubilizado em um solução de metanol/água destilada (1:1).

O teor de flavonoides para o extrato de pólen é menor quando comparado com a média de 6,81 mg EQ g^{-1} de extrato encontrada por Serafine (2018), quando avaliou a atividade antioxidante de polén apícola e seus efeitos na qualidade de hamburgueres. Leja *et al.,*(2007), apresentou valores que variam 171 a 1349 mg EQ 100 g, ao estudar as propriedades antioxidantes do pólen de abelha em espécies de plantas selecionadas. O ultimo autor encontrou um valor cinco vezes maior para o teor de flavonóides. Essas diferenças podem estar relacionadas com os métodos de extração utilizado. Serafine (2018) utilizada um solvente de extração com proporção diferente, um tempo de extração dez vezes menor, e pólen desisdratado. Já . Leja *et al.,*(2007), utiliza metanol 80% para o preparo do extrato.

Zarate *et al*., (2018) apresentou valores que variam de 13 a 379 mg EQ g^{-1} de extrato para amostras de própolis provenientes de vários municipios do México. Pode-se observar que os valores apresentado pelo autor são muito maiores que os valores relatados neste trabalho. A diferença pode ser atribuida as condiçoes diferentes de preparo de extrato. Zarate *et al*., utiliza como solvente o etanol 80%, no entanto, o tempo de extração é de 48h.

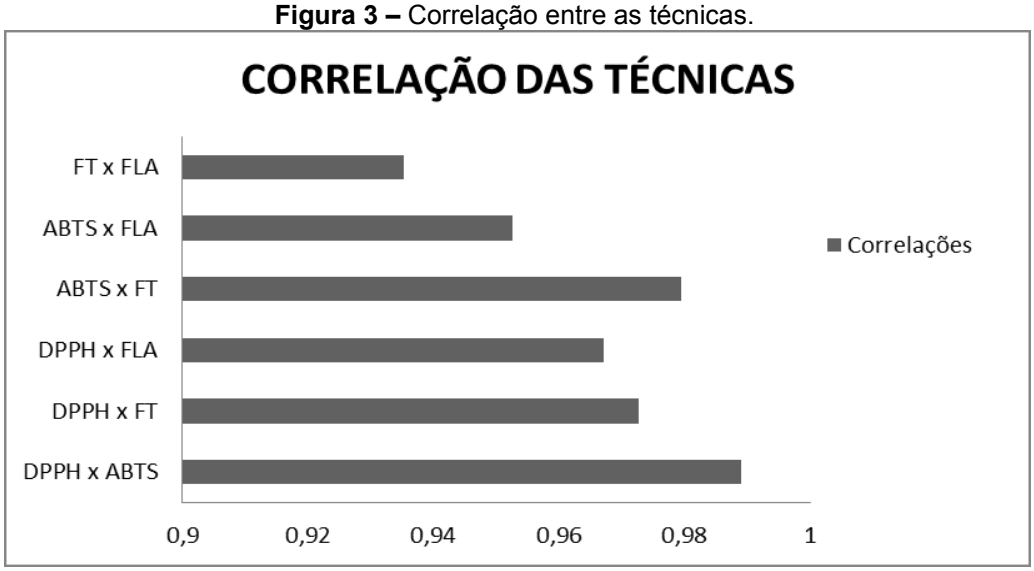
Dentre os três extratos analisados o que apresentou maior atividade antioxidante para todos os métodos foi o extrato de pólen. Ao realizar a comparação com a literatura, pode-se observar que há bastante variação entre os resultados encontrados, ainda sim, é visível que os autores também encontraram valores significantes e promissores para capacidade antioxidante do pólen. A própolis também apresenta uma alta capacidade antioxidante, no entanto, quando comparada com os valores descrito na literatura acaba sendo menor. Já o mel, apresenta uma menor capacidade antioxidante, fato este que pode ser observado na literatura. Essa diferença de valores de atividade antioxidante para os extratos de abelha jatai com os encontrados na literatura podem estar atrelados as espécies diferentes de abelhas, habitat em que formam as colmeias, das plantas onde são

retirados o néctar e pólen, pois, a qualidade vai variar conforme a região e fauna característica, além de outros nutrientes e compostos que levam a construção da própolis e pólen. Além disso, as diferentes formas de extração para obtenção dos extratos, com diferentes solventes e metodologias podem ter acarretado esses valores diferentes nos extratos.

Nos valores obtidos experimentalmente pode-se observar que os extratos de mel e própolis não apresentam diferença significativa para todas as metodologias, exceto para o teor de flavonoides, conforme demostrado pela análise estatística.

No Figura 3 estão apresentadas as correlações entre as técnicas, onde é possível avaliar a concordância entre os teores encontrados durante as análises.

Figura 3 – Correlação entre as técnicas.



* FT- Compostos Fenólicos Totais; FLA- Teor de Flavonoides.
Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Uma boa correlação entre FTxFLA indica que possivelmente a maior parte dos compostos fenólicos são flavonoides. Uma boa correlação entre FT ou FLA com ABTS ou DPPH indica que possivelmente estes compostos sejam responsáveis pela captura desses radicais livres.

Todas as análises apresentam uma boa correlação para as técnicas de atividade antioxidante, teor de compostos fenólicos e teor de flavonóides.

De acordo com Silva, Vendruscolo e Toralles (2011), uma boa correlação entre dois métodos que utilizam do mesmo princípio, como demostrado neste estudo, pode-se pelo uso de apenas um deles.

7 CONSIDERAÇOES FINAIS

Todos os extratos analisados apresentaram atividade antioxidante conforme descrito na literatura, porém, não há muitos relatos que contemplem mel, própolis e pólen de abelha do jataí. Pesquisas contribuem positivamente para que sejam estabelecidos padrões para esses compostos.

O extrato de pólen, por sua vez, mostrou elevada capacidade antioxidante e maior concentração de atividade antioxidante nas metodologias utilizadas, quando comparadas entre os extratos de mel e de própolis. Além disso, todas as análises apresentaram uma boa correlação entre sim, concordando então com os teores encontrados para todas as análises. Espera-se que os resultados obtidos despertem o interesse de novos estudos para conhecer e mapear todas as propriedades benéficas dos produtos da abelha *Tetragonisca angustula* Latreille (jataí).

8 REFERÊNCIAS

AROUCHA, E.M.M.; OLIVEIRA, A.J.F.; NUNES, G.H.S.; MARACAJÁ, P.B.; SANTOS, M.C.A. **Qualidade Do Mel De Abelha Produzido Pelos Incubados Da Iagram E Comercializado No Município De Mossoró/RN.** Revista Caatinga, Mossoró, v.21, n.1, p.211-217, 2008.

BELITZ, H.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food chemistry**. New York: Springer Verlag, p.774, 2004.

BIANCHI, M.L. P; ANTUNES. L. M. G. **Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta.** Revista Nutrição, v.02, p. 123-130, 1999.

BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R. **Antioxidantes: princípios e métodos analíticos**. Curitiba: Appris, 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E. BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, LWT**. Food Science and Technology, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa n.11, de 20 de outubro de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 20 de outubro de 2000, Seção 1, p. 16-17.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001. **Aprova os Regulamentos Técnicos de identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 de janeiro de 2001.

BILIBIU, D.; FREITAS, C.P.; SANTOS, L.F.; BOTTON, N.Y.; SANTOS, L.R. **Atividade antioxidante da Própolis de Abelhas Jataí**. Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, Curitiba, v.04, p.989-996, 2021.

CARPES S.T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S.M.; MASSON, M. L. **Estudo das preparações de extratos de pólen apícola, atividade antioxidante e antibacteriana.** Ciência e Agrotecnologia, v.21, n.6, 2007.

DAVID, J. M.; ALVES, C.Q.; DAVID, J. P.; BAHIA, M.V.; AGUIAR. R.M.; **Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos.** Química Nova, n.33, v.10, 2010.

DEVASAGAYAM, T. P.; TILAK, J.C.; BOLOOR, K.K.; SANE, K.S.; GHASKADBI, S.S.; LELE, R.D. **Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects.** Journal of the Association of Physicians of India, v. 52, p. 794-804, 2004.

GODOI, R. **Criação racional de abelhas jataí**. São Paulo: Ícone, 1989.

GHELDOF, N.; WANG, X.H.; ENGESETH, N. J. **Identification and quantification of antioxidants components of honeys from various floral sources.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 50, n. 10, p. 5870-5877, 2002.

GRAHAM, H. D. **Stabilization of the Prussian blue color in the determination of polyphenols.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, Columbus, v. 40, n. 5, p. 801-805, 1992.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. **The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays.** Journal of Agricultural and Food chemistry, n.53, v.6, p.1841-1856, 2005.

KARAKAYA, S. **Bioavailability of phenolic compounds**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.44, p.453-464, 2010.

KYNGMI M., EBELER, S. E. **Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels.** Food Chemical Toxicology; v.46, p.96-104, 2008.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. **Antioxidant activity of propolis of various geographic origins.** Food Chemistry, v. 84, n. 3, p. 329-339, 2004.

LACERDA, R. C. C. **Avaliação da composição Química e atividade antioxidante da própolis orgânica de *Apis Mellifera* visando à preservação ambiental do ecossistema envolvido**. 110 f. Dissertação (Mestrado Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz'".), Piracicaba, 2012.

LEJA, M.; MARECZEK, A.; WYZGOLIK, G.; KLEPACZ-BANIAK, J.; CZEKONSKA, K. **Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species**. Food Chemistry, n.100, p.237-240, 2007.

LENGLER, S. **Pólen apícola**. Santa Maria: UFSM, p.16, 1999.

LIMA FREITAS, M.F.; **Avaliação Comparativa da Atividade Antimicrobiana de Própolis *Apis Mellifera*, *Melípona subnitida* e *Tetragonisca angustula***. NEWSLAB, ed. 93,2009.

LIRA, A. F.; SOUSA, J. P. L. M; LORENZON, M. C. A.; VIANNA, C. A. F. J.; CASTRO, R.N**. Estudo comparativo do mel de *Apis Mellifera* com méis de meliponíneos.** Acta Veterinária Brasílica, v.8, n.3, 1.169-178, 2014.

LIU, F.; LI, L.; NG, T.B.; GAO, W.; FU, M.; NIU, S.M.; ZHAO, L.; CHEN, R.R.; LI, W. Antioxidant activity of garlic acid from rose flowers in senescence accelerated mice. **Life Science**; v.77, n.2, p.230-40, 2005.

LOPES, A. E. P. **Caracterização físico-química e atividade antioxidante do mel de abelha Jataí (Tetragonisca angustula) proveniente de diferentes regiões do estado do Paraná**. 62 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2019.

MILLER, N.J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M.J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. **A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates.** Clinical Science, v.84, p.12-407, 1993.

MOON, J.K.; SHIBAMOTO, T. **Antioxidant Assays for Plant and Food Components.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 57, n. 5, p. 1655-1666, 2009.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. Editora Nogueirapis, São Paulo, 1997.

PÉREZ, J. A. M.; AGUILAR, T. A. F. **Chemistry of Natural Antioxidants and Studies Performed with Different Plants Collected in Mexico: Oxidative stress and chronic degenerative diseases – A role for antioxidants**. Croatia: in tech, 2013.

PODSEDEK, A.; DUCHNOWICZ, P.; BORS, M.; MICHALAK, M.K.; BRONCEL, M. **Effect of polyphenols extracts from Brassica vegetables on erythrocyte membranes (in vitro study).** Environmental Toxicology and Pharmacology, v.34, p.783-790, 2012.

RAMALHO, W. C. **Análise Físico Química, atividade antioxidante e determinação de compostos fenólicos do mel e do pólen apícola da abelha Apis Mellifera comercializado no sertão paraibano**. 32 f. Artigo (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) Universidade Federal de Campina Grande. Sousa, 2018.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; EVANS, C. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.** Free Radical Biology and Medicine. V.26, n.9-10, p.1231-1237, 1999.

RIBEIRO, S. M. R. **Caracterização e avaliação do potencial antioxidante de mangas (*Mangifera indica L.*) cultivadas no Estado de Minas Gerais**, 166f. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

ROÓS, P. B.; SOARES, L. B.; RESMIM, C.M.; ROSA, F. P.; FARINA, J. B.; VIELMO, N. I. C.; SISTI, J.N.; CAETANO, M. M. TUSI, M. M. **Avaliação de parâmetros físico-químicos e da atividade antimicrobiana in vitro de méis de Jataí (Tetragonisca angustula) provenientes do rio grande do sul.** Perspectiva, Erechim, v.42, n.159, p.97-107, set. 2018.

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

SÁNCHEZ, M. C. **Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems**. Food Science and Technology International, n. 8, v.3, p.121-137,2002.

SERAFINE, L. F. **Atividade antioxidante dos extratos de manjerona e pólen apícola: efeitos na qualidade de hambúrguer**. 136 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Biotecnológicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2013.

SILVA, C. L. D.; QUEIROZ, A. J. D. M.; FIGUEIREDO, R. M. F. **Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 8, n. 2-3, p. 260-265, 2004.

SILVA, C.H.M. **Pólen**. In: I Seminário Estadual de Apiterapia e Apiprofilaxia, Santa Maria - RS. Anais. 23p, 1998.

SILVA, R. S.; VENDRUSCOLO, J. L.; TORALLES, R. P. **Avaliação da capacidade antioxidante em frutas produzidas na região Sul do RS. Atual Ciência e Tecnologia Agrícola**, v. 17, n. 03, 2011.

SOUSA, J. P. L. M. **Perfil físico-químico e capacidade antioxidante de méis produzidos por abelhas sem ferrão**. 134 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Ciências Exatas – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-Rj, 2014.

SUCUPIRA, N.R.; SILVA, A.B.; PEREIRA, G. COSTA, J.N. **Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Fruto.** Journal of Health Sciences, v.14, n.4, 2012.

VASILAKI, A.; HATZIKAMARI, M.; STAGKOS-GEORGIADIS, A.; GOULA, A. M.; MOURTZINOS, I. **A natural approach in food preservation: Propolis extract as sorbate alternative in non-carbonated beverage.** Food Chemistry, v.298, 2019.

VEDANA, M.I.S.; ZIEMER, C.; MIGUEL, O.G.; PORTELLA, A.C.; CANDIDO, L.M.B. **Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva.** Alimentação e Nutrição, Araraquara, v.19, p.159-165, abr-jun, 2008.

WHITE JUNIOR, J. W. **Honey.** Advances in Food Research, v. 22, p. 287-374, 1978.

ZARATE, M. S. H.; JUAREZ, M. R. A.; GARCÍA, A.C.; LÓPEZ, C.O.; CHÁVEZ, A.J.G.; GARFIAS, J. J. N. S.; RAMOS, F. A. **Flavonoids, phenolic content, and antioxidant activity of propolis from various areas of Guanajuato, Mexico.** Food and Scienc and Technology, v.38, n.2, p. 210-215, apr-june, 2018.