



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS

SHERON RANIELLY MATOS BARBOSA

**SAZONALIDADE AMBIENTAL NO TEOR DE FENÓLICOS E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DE PRÓPOLIS EM ÁREAS DE FLORESTA E SAVANA DE
RORAIMA**

Boa Vista, RR
2016

SHERON RANIELLY MATOS BARBOSA

**SAZONALIDADE AMBIENTAL NO TEOR DE FENÓLICOS E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DE PRÓPOLIS EM ÁREAS DE FLORESTA E SAVANA DE
RORAIMA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais da Universidade Federal de Roraima, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Recursos Naturais. Área de concentração: Bioprospecção.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana
Flach.

Co-orientadora: Profa. Dra. Gardênia
Holanda.

Boa Vista, RR

2016

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

B238s Barbosa, Sheron Ranielly Matos

Sazonalidade ambiental no teor de fenólicos e atividade antioxidante de própolis em áreas de floresta e savana de Roraima / Sheron Ranielly Matos Barbosa. – Boa Vista, 2016. 96 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Flach.

Coorientadora: Profa. Dra. Gardênia Holanda.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais.

1 – Apis mellifera. 2 – Quantificação. 3 – Bioativos. 4 – Períodos climáticos. I – Título. II – Flach, Adriana (orientadora). III – Holanda, Gardênia (coorientadora).

CDU – 638.132(811.4)

SHERON RANIELLY MATOS BARBOSA

**SAZONALIDADE AMBIENTAL NO TEOR DE FENÓLICOS E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DE PRÓPOLIS EM ÁREAS DE FLORESTA E SAVANA DE
RORAIMA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais da Universidade Federal de Roraima, como pré-requisito para a conclusão do curso de mestrado em Recursos Naturais, com área de concentração: Bioprospecção, defendida em 19 de Agosto de 2016 e avaliada pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. André Camargo de Oliveira
Membro – Universidade Estadual de Roraima

Prof. Dr. Silvio José Reis da Silva
Membro – Museu Integrado de Roraima

Prof. Dr. Luiz Antonio Mendonça A. da costa
Membro – Universidade Federal de Roraima

AGRADECIMENTOS

É preciso saber agradecer, antes de tudo, à Deus por nossas vidas e pelas oportunidades que nos são dadas.

Assim, aproveito este espaço para agradecer também meus amados pais, Lerislane Matos e Francisco Barbosa; sempre dedicados e comprometidos com a formação moral de seus filhos. A minha querida avó Maria Das Dores, por estar ao meu lado desde sempre, bem como meu companheiro de todos os dias, Carlos Adriano Coêlho, pelo carinho, paciência, conselhos e incentivos.

Agradeço as minhas orientadoras, professoras Dra. Adriana Flach e Dra. Gardênia Cabral pela orientação atenciosa, não só nesta produção, mas em todos os momentos de precisão ao longo desta caminhada. Obrigada pelo apoio, dedicação, compreensão, demonstração de amizade e paciência... Sou grata por seus ensinamentos, e nesses também incluo os de vida! Às tenho como exemplos de grandes profissionais e seres humanos.

Ao professor Dr. Luiz Antonio pelos conhecimentos e vivências compartilhadas. Aos colegas do laboratório de biotecnologia e química fina, Gilmara e Gilmar Prado pelo apoio prestado. Principalmente aos amigos Edineide Cristina, Daniela Cavalcante e Sebastião Salazar pela amizade, sugestões, companheirismo, e porque não dizer: Pelos momentos de descontração!? Agradeço também a todos os colegas do curso de mestrado, pois juntos trilhamos essa caminhada!

Por fim, não poderia deixar de agradecer ao PRONAT pela oportunidade de cursar este mestrado, e à CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

Com sincera gratidão!

“O medo de perder, tira a vontade de ganhar.”

(Vanderlei Luxemburgo)

RESUMO

O tipo de vegetação, a estação do ano e o estado físico da própolis podem interferir em sua composição, qualidade e quantidade produzida. Este trabalho teve por objetivo estudar a própolis produzida em Roraima por *Apis mellifera* em áreas de floresta e savana e em períodos de chuva e seca, com base na composição química e atividade antioxidante. As soluções de extratos etanólicos foram preparadas por meio de maceração e adição de solvente, apresentando variação de coloração. Por métodos espectrofotométricos foram quantificados fenólicos e flavonoides. A determinação do potencial antioxidante foi avaliada utilizando o método de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila e a oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico. A produção de própolis das amostras coletadas em áreas de floresta foi maior no período chuvoso, e no período seco se destacaram as coletadas em áreas de savana. O teor de fenólicos mais elevado foi observado no período seco em ambas as fitofisionomias. Flavonas e flavonóis nas duas áreas estudadas apresentaram os maiores teores durante o período seco. As quantidades mais elevadas de flavanonas e diidroflavonóis foram detectadas nas amostras das áreas de floresta e savana durante a estação seca. Os teores de antocianinas foram muito superiores às demais classes de flavonoides, e os melhores resultados para os locais de floresta foram obtidos durante o período seco, e nos de savana no chuvoso. Esta classe se destacou devido aos elevados teores apresentados e também por resultados para quantificação de antocianinas em própolis não serem apresentados na literatura. A atividade antioxidante determinada pela oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico foi maior no período chuvoso nas áreas de floresta e no período seco nas áreas de savana. Por outro lado, a análise da capacidade atividade pelo método DPPH foi maior no período seco nas duas fitofisionomias estudadas. Esta atividade por ambos os métodos foi significativa, apresentando valores muito elevados quando comparados a dados da literatura. Quando utilizada a correlação de Pearson entre os compostos fenólicos e flavonoides totais com a capacidade antioxidante observou-se correlações variando de moderada à fortemente positiva ($r^2= 0,5$ a $1,0$).

Palavras-chaves: *Apis mellifera*. Quantificação. Bioativos. Períodos climáticos. Fitofisionomias.

ABSTRACT

The type of vegetation, the season and the physical state of propolis can interfere in its composition, quality and quantity produced. This study aimed to study the propolis produced in Roraima by *Apis mellifera* in areas of forest and savannah and rain and dry periods, based on the chemical composition and antioxidant activity. The ethanol extract solutions were prepared by maceration and solvent addition, with varying color. By spectrophotometric methods were quantified phenolics and flavonoids. Determination of antioxidant activity was evaluated using the method of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical sequestration and oxidation of β -carotene/linoleic acid system. The production of propolis samples collected in forest areas was higher in the rainy season and the dry season were the most collected in savanna areas. The higher phenolic content was observed in both the dry period phytophysiognomies. Flavones and flavonols in the two areas studied showed the highest levels during the dry season. The higher amounts of flavanones and dihydroflavonois were detected in samples from areas of forest and savannah during the dry season. The anthocyanin content were higher than the other flavonoids classes, and better results for forest were obtained during the dry season, and in the savannah during the rainy. This class stood out due to high levels presented and also results for the quantification of anthocyanins in propolis not be common in the literature. The antioxidant activity determined by the oxidation of β -carotene / linoleic acid system was observed during the rainy season in forest areas, and in the savannah the highlight was the propolis collected during drought. On the other hand, the capacity analysis activity by DPPH was higher in the dry season, the two studied vegetation types. This activity by both methods was significant, with very high values when compared to literature data. Pearson correlation of phenolic compounds and flavonoids with antioxidant capacity was observed ranging from moderate to strongly positive ($r^2 = 0.5$ to 1.0).

Keywords: *Apis mellifera*. Quantification. Bioactive. Climatic periods. Phytophysiognomies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fenólicos comumente encontrados nas própolis brasileiras	27
Figura 2 -	Flavonóides comumente encontrados nas própolis brasileiras	28
Figura 3 -	Reação entre o radical livre DPPH e uma molécula antioxidante	31
Figura 4 -	Posição dos quadros coletores de própolis nas colmeias de <i>Apis mellifera</i>	34
Figura 5 -	Coleta de própolis dos quadros coletores através de raspagem espátula inox com	35
Figura 6 -	Coletor de própolis de cobertura adaptado com fita adesiva transparente	36
Figura 7 -	Coletor de própolis de cobertura adaptado com “talos” de buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>)	36
Figura 8 -	Localização geográfica do apiário situado no município de Boa Vista- região do Monte Cristo: área de savana. Coordenadas: N 02°52'08.5" / W 060°42'58.8"	37
Figura 9 -	Localização geográfica do apiário situado no município de Boa Vista- região do PA Nova Amazônia: a área de savana. Coordenadas: N 03°06'14.3" / W 060°51'32.5"	37
Figura 10 -	Localização geográfica do apiário situado no município de Bonfim - região da Confiança: área de savana. Coordenadas: N 02°56'00.0" / W 060°21'27.6"	38
Figura 11 -	Localização geográfica do apiário situado no município de Boa Vista- região do Alvorada: área de floresta. Coordenadas: N 02°42'34.2" / W 060°44'37.1"	38
Figura 12 -	Localização geográfica do apiário situado no município de Mucajaí - região do Tamandaré: área de floresta. Coordenadas: N 02°27'01.4" / W 060°54'27.9"	39
Figura 13 -	Localização geográfica do apiário situado no município de Caracaraí- região do Novo Paraíso: área de floresta. Coordenadas: N 01°16'06.2" / W 060°21'31.4"	39
Figura 14 -	Pesagem da própolis <i>in natura</i> acondicionada em recipiente de vidro	40
Figura 15 -	Esquema da extração etanólica realizada com as própolis coletadas	41

Figura 16 - Própolis bruta em processo de maceração	42
Figura 17 - Aspecto visual das soluções dos extratos etanólicos de amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em áreas de floresta e savana de Roraima	53
Figura 18 - Estrutura básica de um composto fenólico	56
Figura 19 - Estrutura básica dos flavonoides	59
Figura 20 - Estrutura básica das flavonas	59
Figura 21 - Estrutura básica dos flavonóis	59
Figura 22 - Estrutura básica das flavanonas	63
Figura 23 - Estrutura básica dos diidroflavonois	63
Figura 24 - Estrutura básica das antocianinas	65
Figura 25 - Cinética da reação do sistema β -caroteno/ácido linoleico com as amostras de própolis do período chuvoso nas áreas de savana e floresta de Roraima	67
Figura 26 - Cinética da reação do sistema β -caroteno/ácido linoleico com as amostras de própolis do período seco nas áreas de savana e floresta de Roraima	68

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Classificação dos compostos fenólicos de acordo com a estrutura básica	26
Quadro 2 -	Codificação utilizada para identificação dos locais de coleta de própolis	40
Quadro 3 -	Alíquotas da solução de trolox utilizadas na curva de calibração.....	48
Quadro 4 -	Alíquotas de extrato de própolis utilizadas no doseamento das amostras	49
Quadro 5 -	Dados estimados para a precipitação mensal acumulada (mm/mês) de 01/04/2015 a 31/01/2016 dos locais de coleta nos períodos chuvoso e seco	51
Quadro 6 -	Produção de própolis (g) nas áreas de savana e floresta nos períodos seco e chuvoso	54
Quadro 7 -	Valores médios dos compostos fenólicos (mg ácido gálico/g própolis) em amostras de própolis dos períodos seco e chuvoso das áreas de floresta e savana	56
Quadro 8 -	Teor de fenólicos (%) das amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso, em duas fitofisionomias	58
Quadro 9 -	Valores médios de flavonas e flavonóis (mg de quercetina/g de própolis) nas amostras de própolis dos períodos seco e chuvoso em diferentes fitofisionomias	60
Quadro 10 -	Teor de flavonas e flavonóis das amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em duas fitofisionomias	62
Quadro 11 -	Valores médios de flavanonas e diidroflavonois (mg de pinocembrina/ g de própolis) em amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em diferentes fitofisionomias	64
Quadro 12 -	Valores médios de antocianinas (mg/100 g) em amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em diferentes fitofisionomias	66

Quadro 13 - Valores de atividade antioxidante (%) pela oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico em amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em duas fitofisionomias	69
Quadro 14 - Valores de atividade antioxidante ($\mu\text{mol TE/g}$ de própolis) pelo sequestro do radical livre DPPH em amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em duas fitofisionomias	71
Quadro 15 - Coeficientes de correlação de Pearson (r^2) de fenólicos e flavonoides totais com a capacidade antioxidante dada pelos métodos de DPPH e β -caroteno/ácido linoleico nas amostras de própolis coletadas em diferentes períodos climáticos e fitofisionomias	73

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	Atividade Antioxidante
Abs	Absorbância
AlCl ₃	Cloreto de alumínio
Al	Alumínio
ANOVA	Análise de variância
BVA	Boa Vista (Alvorada)
BVC	Boa Vista (Monte Cristo)
BVM	Boa Vista (PA Nova Amazônia)
BF	Bonfim (Confiança)
BHT	2,6 - terc-butil-1-hidroxi-tolueno
β	Letra grega “Beta”
C	Carbono
CR	Caracará (Novo Paraíso)
°C	Grau Celsius
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
DNP	2,4-dinitrofenilidrazina
DRc	Taxa de degradação do controle
DRs	Taxa de degradação na presença do padrão ou extrato
et al.	Expressão latina que significa “e outros (as)”
etc	Abreviação da expressão latina “ <i>et cetera</i> ”, que significa “e assim por diante”
FD	Fator de diluição
g	grama
HCl	Ácido clorídrico
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (União Internacional de Química Pura e Aplicada)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IN	Instrução Normativa
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
<i>in vitro</i>	Expressão latina que significa, literalmente, “no vidro”
<i>in natura</i>	Expressão latina que significa “na natureza”

KOH	Hidróxido de potássio
L	Litro
ln	Logaritmo natural
MAPA	Ministério da Agricultura e Abastecimento
MJ	Mucajaí (Tamandaré)
MT	Mato Grosso
MG	Minas Gerais
min	Minutos
m	Metro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
mL	Mililitro
mg	Miligrama
N	Normal (unidade de medida de concentração)
Nº	Número
nm	Nanômetro
OH	Hidroxila
p	Probabilidade
P.A.	Para análise
rpm	Rotação por minuto
RS	Rio Grande do Sul
r ²	Coefficiente de correlação
SISVAR	Sistema para Análise de Variância
S.l.	Expressão <i>Sine loco</i> , usada quando o local da publicação é desconhecido
s./n.	Expressão usada quando o número da publicação é desconhecido
t	Tonelada
TE	Equivalente Trolox
UFRR	Universidade Federal de Roraima
US\$	Dólar (moeda)
UV	Ultravioleta
v/v	Volume/volume
µL	Microlitro

μm	Micrômetro
μM	Micromolar
μmol	Micromol
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	APICULTURA NO BRASIL	18
1.2	APICULTURA EM RORAIMA	19
1.3	VEGETAÇÃO E CLIMA DE RORAIMA	19
1.4	PRÓPOLIS	21
1.4.1	Própolis no Brasil e sua comercialização	23
1.4.2	Fatores que podem atuar sobre as características da própolis	24
1.5	COMPOSTOS FENÓLICOS	26
1.6	FLAVONOIDES	27
1.7	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	29
1.7.1	Método do radical DPPH	30
1.7.2	Método de auto oxidação do β-caroteno/ácido linoleico	31
2	OBJETIVOS	33
2.1	OBJETIVO GERAL	33
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
3	MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1	COLETA E LOCALIZAÇÃO	34
3.2	EXTRAÇÃO	39
3.2.1	Obtenção dos extratos etanólicos	41
3.3	ANÁLISES ESPECTROFOTOMÉTRICAS	42
3.3.1	Teor de fenólicos	42
3.3.1.1	Curva de calibração.....	43
3.3.1.2	Doseamento das amostras.....	43
3.3.2	Teor de flavonoides	44
3.3.2.1	Teor de flavonas e flavonóis	44
3.3.2.1.1	<i>Curva de calibração</i>	44
3.3.2.1.2	<i>Doseamento das amostras</i>	45
3.3.2.2	Teor de flavanonas e diidroflavonois	45
3.3.2.2.1	<i>Curva de calibração</i>	45
3.3.2.2.2	<i>Doseamento das amostras</i>	46
3.3.2.3	Teor de antocianinas.....	46

3.3.2.3.1	<i>Doseamento das amostras</i>	46
3.3.3	Avaliação da ação sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)	47
3.3.3.1	Curva de calibração	47
3.3.3.2	Doseamento das amostras.....	48
3.3.4	Auto oxidação do sistema β-caroteno/ácido linoleico	49
3.4	ESTATÍSTICA	50
4	RESULTADOS E DISCUSÃO	51
4.1	PLUVIOSIDADE: PERÍODOS DE COLETA	51
4.2	COLORAÇÃO DAS PRÓPOLIS	52
4.3	PRODUÇÃO DE PRÓPOLIS.....	53
4.4	ANÁLISE DE FENÓLICOS, FLAVONÓIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	55
4.4.1	Teor de fenólicos	55
4.4.2	Teor de flavonoides	58
4.4.2.1	Flavonas e flavonóis	59
4.4.2.2	Flavanonas e diidroflavonois	63
4.4.2.3	Antocianinas	65
4.4.3	Atividade antioxidante pela oxidação do sistema β-caroteno/ácido linoleico	67
4.4.4	Atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH ..	70
4.5	CORRELAÇÃO DAS ANÁLISES ENTRE FENÓLICOS, FLAVONOIDES TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	72
5	CONCLUSÕES	75
	REFERÊNCIAS	76
	APÊNDICES	84

1 INTRODUÇÃO

A apicultura é uma atividade de grande importância para o setor produtivo, pois está entre as poucas que compreende o tripé da sustentabilidade: as áreas econômica, social e ecológica. Esta se encontra em grande crescimento no Brasil por ser opção para a agricultura familiar, favorecendo o aumento de renda com pouco investimento e sem causar danos ao ambiente.

A espécie *Apis mellifera* é a mais usada na apicultura por apresentar alto rendimento, proporcionando ao homem o benefício de produtos como: mel, própolis, geleia real, cera, pólen e apitoxina. Especificamente, a própolis, possui características físicas resinosas e composição, coloração e consistência bem variadas, por isso é considerada uma das misturas mais heterogêneas encontradas em fontes naturais. Os fatores que contribuem para a sua diversidade quanto a constituição e características são inúmeros, por isso a própolis é reportada como um material de composição complexa. Este produto apícola é intensamente influenciado pela flora da região, épocas de coleta, tipo de coletor, características genéticas das abelhas, além do manejo. Logo, estes exercem importância sobre as propriedades (físicas, químicas e biológica) encontradas na própolis.

As áreas tropicais apresentam diversidade vegetal bastante ampla. Provavelmente por isso, nessas regiões as atividades biológicas da própolis são mais variadas do que em qualquer outra. No Brasil, devido a essa particularidade, a composição das amostras do referido produto apícola coletadas em diferentes partes do país são descritas com grande variação. Além disso, a diferença sazonal também pode influenciar na quantificação de alguns de seus componentes biologicamente ativos, logo, também pode-se esperar que algumas atividades relacionadas a estes compostos sejam similares em diferentes estações do ano (NUNES et al., 2009).

Apesar da grande procura do mercado pela própolis, ainda existem poucos estudos sobre a sua constituição química e atividade biológica. No estado de Roraima, apesar do potencial para exploração apícola e do número considerável de apicultores que conduzem essa atividade na região, as informações existentes sobre os produtos apícolas, principalmente a própolis, são menores do que em outros estados brasileiros, restringido os investimentos nessa área, não restando outra alternativa aos produtores a não ser a produção de mel.

Nesse contexto, este trabalho destina-se à resolução da seguinte questão: a atividade antioxidante e a composição química da própolis produzida por *Apis mellifera* difere em áreas de floresta e savana e de acordo com o período climático? Contudo, apresentaremos a seguir um breve histórico sobre a apicultura no Brasil, com ênfase na produção de própolis e ocorrência deste produto no estado de Roraima. Serão também indicadas as classes dos compostos químicos encontrados nas amostras avaliadas nesta pesquisa, assim como as técnicas utilizadas.

1.1 APICULTURA NO BRASIL

O panorama do setor apícola brasileiro revela momentos bem definidos no cenário agrário. Em 1839, a atividade apícola iniciou-se no Brasil, quando o padre Antônio Carneiro trouxe algumas colônias de abelhas da espécie *Apis mellifera* da região do Porto, Portugal, para o Rio de Janeiro. Imigrantes europeus, posteriormente introduziram outras raças da mesma espécie, principalmente nas regiões Sul e Sudeste (SEBRAE, 2015a).

No ano de 1956, visando iniciar um programa de seleção e melhoramento genético das abelhas no Brasil, foram introduzidas 33 rainhas africanas (*A. mellifera scutellata*). No entanto, no ano seguinte (1957), enxamearam 26 colmeias, o que originou o processo de africanização das abelhas no Brasil e na América (MARTINEZ; SOARES, 2012).

Inicialmente, a agressividade dessas abelhas causou grande problema no manejo dos apiários, e por isso muitos apicultores abandonaram a atividade. Somente na década de 70, após o desenvolvimento de técnicas adequadas, a apicultura passou a crescer e se expandir. Esse período foi tão marcante para essa atividade, que em 1970 ocorreu o primeiro Congresso Brasileiro de Apicultura (SANFORD, 2005).

As abelhas africanizadas, além de muito produtivas, possuem tolerância a muitas pragas e doenças e, no Brasil são as responsáveis pelo desenvolvimento apícola do país. Contudo, apesar da ressaltada atividade ter passado por vários problemas, tornou-se uma boa opção para os agricultores brasileiros.

1.2 APICULTURA EM RORAIMA

Com características de vegetação e clima favoráveis à produção de mel, Roraima apresenta um grande potencial para a apicultura. Comparado a outros estados, a produtividade no extremo norte do Brasil dura, em média, cinco meses a mais do que no restante do país. Por ano, cerca de três colheitas são realizadas no estado (PONTES, 2015).

Roraima é composto por 15 municípios, e desses, de acordo com o último censo de produção da pecuária municipal - 2012, quatro se destacaram no setor apícola com a produção de mel, sendo eles, em ordem decrescente: Boa Vista (40 t), Mucajaí (34 t), Cantá (27 t) e Bonfim (25,3 t). A produção de mel em 2012 foi fortemente afetada pela falta de floração devido à seca, e quedas sensíveis foram verificadas na produção de mel de abelha, -19,3% (IBGE, 2015a).

Baseando-se no exposto acima, para a diversificação dos produtos apícolas e desenvolvimento da apicultura como um todo em Roraima, faz-se necessário verificar se os municípios com melhor aptidão para produção de mel têm a mesma capacidade para produzir outros gêneros apícolas, inclusive a própolis. E além disso, analisar se as condições no entorno dos apiários contribuem para isto, principalmente, a vegetação e o clima.

Em razão da forte e crescente demanda por produtos naturais, o mercado interno e externo de produtos oriundo da apicultura tem chamado a atenção de agentes ligados ao setor da agroindústria, tanto privados como públicos, e casos de sucesso tem sido mostrados na mídia nacional. Roraima, por sua vez, apresenta potencial para alcançar esse sucesso. No entanto, apesar do estado apresentar muitas vantagens para o desenvolvimento do setor apícola, estas ainda precisam ser melhor exploradas.

1.3 VEGETAÇÃO E CLIMA DE RORAIMA

A apicultura no estado de Roraima é beneficiada com o bioma Amazônia (IBGE, 2015b). Este, nos períodos climáticos considerados típicos, ou seja, com aproximadamente seis meses de seca e de chuva, apresenta época de floradas com duração superior a meio ano ininterrupto em algumas áreas.

Na composição vegetal de Roraima predominam basicamente florestas úmidas, na parte sul e norte-noroeste, representadas pelas unidades fitoecológicas: Floresta Ombrófila Densa, Ombrófila Aberta, Estacional e Ombrófila Aluvial. O referido estado apresenta um espectro que varia desde as florestas de terra firme até aquelas de planícies aluviais periodicamente alagadas. As matas aluviais estão restritas às várzeas dos principais cursos de água, bem como a algumas áreas alagadas da região sudoeste, estas intercaladas com as feições de campinarana e de formações pioneiras. Já a parte central e norte-nordeste de Roraima são representadas por áreas de savanas em suas mais diversas feições (IBGE, 2012; FLONARR, 2015).

Florestas são um conjunto de sinúcias dominado por fanerófitos de alto porte, com quatro estratos bem-definidos: herbáceo, arbustivo, arvoreta/arbóreo baixo e arbóreo. Caracterizam-se pelo adensamento de árvores altas, com redução da quantidade de luz que chega ao solo, o que limita o desenvolvimento de herbáceas e arbustivas (IBGE, 2012).

Savana ou cerrado é uma vegetação xeromorfa que ocorre sob distintos tipos de clima. Em algumas partes do Brasil, recebe nomes locais. No caso de Roraima é conhecida como “lavrado”. As feições de savanas, que dominam a parte central e norte-nordeste do estado, apresentam-se em quatro subgrupos de formação: florestada, arborizada, parque e gramíneo-lenhosa. Já no extremo norte de Roraima observa-se a feição caracterizada como estépica, nas formas arborizada e parque (IBGE, 2012; FLONARR, 2015).

Em relação ao clima de Roraima, este varia de acordo com cada região, limitando-se a dois períodos climáticos: seco e chuvoso. De acordo com o INPA (1997) e com o Köppen Climate Classification (2016), o clima no estado é representado por três grupos climáticos (Af, Am e Aw).

A região sul de Roraima é caracterizada por áreas de florestas tropicais úmidas em relevo de planície e baixos platôs, predominando o tipo climático “Af”, com elevado índice anual de precipitação (> 2.000 mm) e pouca variação ao longo dos anos. A variação entre os meses também é pequena, embora seja possível identificar meses com índices pluviométricos abaixo da média (INPA, 1997; KÖPPEN CLIMATE CLASSIFICATION, 2016).

Ao nordeste do estado, o tipo climático predominante é o “Aw”. Nessas áreas o período seco é definido em quatro meses do ano, englobando em geral, os meses entre dezembro e março. Em média, 10% da precipitação anual ocorre nesse período,

o que determina uma distribuição desigual das chuvas (INPA, 1997; KÖPPEN CLIMATE CLASSIFICATION, 2016).

Por fim, o tipo climático “Am” se estabelece em um corredor florestal que sofre influência das savanas, floresta úmida e dos altos relevos do norte de Roraima, ou seja, é um intermediário entre os tipos “Aw” e “Af”. Possui período seco definido, mas menos intenso do que “Aw”. A quantidade anual de chuvas (1.700 – 2.000 mm) é menor que “Af”, porém a frequência é maior e melhor distribuída ao longo do ano em relação a “Aw” (INPA, 1997; KÖPPEN CLIMATE CLASSIFICATION, 2016).

1.4 PRÓPOLIS

De acordo com a Instrução Normativa Nº 3, de 19 de janeiro de 2001, própolis é o produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas colhidas pelas abelhas, de brotos, flores e exsudados de plantas, nos quais os referidos insetos acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto. Basicamente, são compostas de 55% de resinas e bálsamos, 30% de cera, 10% de óleos voláteis e 5% de pólen, variando as proporções conforme a origem. Sua coloração varia entre amarelada, parda, vermelha, verde, cinza e marrom (BRASIL, 2001).

O nome própolis é derivado do grego *pro*: em defesa de; e *polis*: a cidade. Esse material é utilizado pelas abelhas na proteção e assepsia da colmeia, fechamento de buracos e frestas, proteção contra insetos externos, mumificação de suas carcaças e de invasores, e também é usada na prevenção do crescimento de microrganismos (MIGUEL et al., 2014).

A própolis é o produto apícola mais estudado na atualidade em todo mundo. A composição e atividade biológica são parâmetros utilizados para sua caracterização, englobando grupos químicos. Já foram identificados vários compostos como ácidos graxos, compostos fenólicos, flavonóides, triterpenos, esteróides, hidrocarbonetos, aminoácidos, etc (MIGUEL et al., 2014).

O supracitado produto apícola também apresenta várias atividades farmacológicas e as pesquisas têm demonstrado efeitos positivos dos extratos do referido composto sobre algumas ações, dentre elas: antibacteriana, antioxidante (CABRAL et al., 2009), anticancerígena, anti-HIV (PARK et al., 2000),

antimutagênica, antifúngica, anti-inflamatória, antiviral, antiprotozoário (PINTO; PRADO; CARVALHO, 2011). No entanto, mesmo que presentes em alguns tipos de própolis, os constituintes responsáveis por essas atividades podem variar em seus teores.

Não só o Brasil, mas vários países têm realizado estudos com a finalidade de analisar os fatores que podem levar à diversificações da própolis. Artigos têm sido publicados acerca da composição da própolis e os vários fatores que interferem na sua qualidade e quantidade produzida, sendo alguns desses: tipo de vegetação, estações do ano, e seu estado físico (SOUZA et al., 2010).

A composição da própolis depende da sua origem botânica, e as suas propriedades biológicas também estão ligadas a essa procedência. Isso faz com que a importância de estudos individualizados dos locais dos apiários mereça destaque.

Park, Ikegaki e Alencar (2000) coletando amostras de própolis em três regiões do Brasil, identificaram os 12 grupos deste produto encontrados na classificação brasileira, sendo cinco grupos na região sul (amarelo, castanho claro, castanho escuro e marrom esverdeado), na região nordeste seis grupos (marrom avermelhado, marrom esverdeado, castanho escuro, amarelo e amarelo escuro) e um grupo na região sudeste (verde ou marrom esverdeado). Recentemente, também na região nordeste, Dausch et al. (2006) encontraram um novo grupo de própolis (a vermelha), presente em colmeias situadas ao longo dos rios e litoral nordestino, que por sua vez foi classificada como própolis do grupo 13. Com relação aos grupos do referido produto apícola presentes na região norte, as informações ainda são incipientes.

Apesar da classificação das própolis brasileiras, há pesquisas relatando que sua composição química pode variar de acordo com a sazonalidade regional, o que pode influenciar no seu potencial. Estudos que discorrem acerca desse efeito sazonal concluem que este é um ponto muito importante para a caracterização da própolis, pois as diferentes temperaturas referentes a cada região influenciam na sua composição química (SIMÕES-AMBROSIO et al., 2010). Este tipo de estudo também orienta o calendário apícola, ajustando a produção e direcionando o manejo.

Em geral, a própolis não é utilizada como matéria-prima, e sim como extrato obtido a partir de solventes. No entanto, no Brasil ainda não existe legislação para regular nem a própolis bruta, nem seus extratos, mas o Ministério da Agricultura e Abastecimento - MAPA criou um regulamento técnico de identidade e qualidade de própolis e extratos de própolis, visando estabelecer a identidade e as condições

mínimas de qualidade que a própolis destinada ao comércio nacional e internacional deve atender (BRASIL, 2001).

1.4.1 Própolis no Brasil e sua comercialização

O interesse das pessoas por produtos que tragam benefícios à saúde vem aumentando com o passar dos tempos. Por isso, os de origem natural estão sendo cada vez mais requisitados, e os apícolas se encaixam perfeitamente nesses anseios.

Nos últimos anos, uma grande quantidade de marcas de produtos naturais tem utilizado a própolis na composição de seus produtos, como: balas, chocolates, doces, chá, protetor solar, gel pós-barba, xampus, cremes para pele, soluções antissépticas, creme dental, sabonetes, batom, *spray* bucal, xaropes, etc (LEGLER, 2014). A ausência de uma marca forte no setor de própolis acaba resultando nesse atual mercado bastante pulverizado, com muitas marcas concorrentes.

O Brasil encontra-se em segundo lugar como produtor mundial de própolis, sendo superado apenas pela China. Das quase 800 toneladas de própolis consumidas no mundo anualmente, o Brasil responde por aproximadamente 170 toneladas, sendo que dessa quantidade, 80% são demandados ao mercado japonês (ARANTES, 2014). O maior produtor de própolis no Brasil é o estado de Minas Gerais, mas o país já possui mais de 10.000 produtores de própolis espalhados por suas diferentes regiões. Anualmente são exportados em torno de US\$ 30.000.000,00 do produto na forma de extrato alcoólico ou aquoso, encapsulado ou associado a outros vegetais também antioxidantes ou simplesmente na forma bruta (SEBRAE, 2015b).

Segundo Martinez e Soares (2012) o setor apícola no Brasil tem mostrado tendência ao crescimento, o que estimula os apicultores a aumentarem suas produções. Por isso, torna-se importante a profissionalização daqueles que estão envolvidos direta e indiretamente com a apicultura, para que se possa atender as expectativas quanto aos níveis e padrões produtivos e de qualidade estabelecidos pelos países importadores, não apenas de própolis, mas dos produtos apícolas em geral.

1.4.2 Fatores que podem atuar sobre as características da própolis

Pesquisas com própolis em várias regiões do Brasil e do mundo têm sido realizadas com a finalidade de analisar os fatores que podem causar variação em suas características (SOUZA et al., 2010). Popova et al. (2004) comentam que o tipo de própolis produzida pelas abelhas depende das resinas das plantas disponíveis nas diferentes regiões, por isso sua composição química é altamente variável. No Brasil a própolis verde produzida na região sudeste tem como origem botânica a *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), que apresenta qualidade físico-química e ação antimicrobiana (FUNARI; FERRO, 2006). Já a vermelha, produzida no nordeste possui como principal origem botânica a *Dalbergia ecastophyllum* (Fabaceae) e apresenta as atividades antioxidante e antibacteriana (DAUGSCH et al., 2008).

Barth et al. (2013) nos resultados de suas pesquisas discorrem sobre o quanto a fitogeografia influência nas características da própolis e que isso pode explicar as variações de compostos químicos entre elas. Além disso, a amplitude das atividades da própolis é maior em áreas tropicais do planeta, refletindo a diversidade vegetal destas regiões (BANKOVA; CASTRO; MARCUCCI, 2000). Devido a essa variedade de vegetação as própolis brasileiras puderam ser agrupadas em grupos distintos, de acordo com a composição química e atividades biológicas (PARK; IKEGAKI; ALENCAR, 2000).

Castro et al. (2007), demonstraram que a atividade antibacteriana nas própolis pode variar não só em função da vegetação, mas também do período de coleta e da sazonalidade local. Os mesmos verificaram que a sazonalidade influenciou na atividade de suas amostras. Isso ocorreu, provavelmente, devido à alteração na concentração de compostos bioativos oriundos das fontes vegetais coletadas pelas abelhas.

A sazonalidade é um fator bastante relacionado às diferenças na constituição das própolis (SFORCIN et al., 2001). A coleta da própolis no Brasil é realizada durante todo ano, devido ao clima tropical, isso acontece porque a oscilação das temperaturas não é extrema, possibilitando que as abelhas saiam da colmeia para coletar resina para produção da própolis. Por outro lado, as abelhas oriundas do hemisfério Norte coletam resinas somente no verão, incluindo o final da primavera e início do outono, totalizando aproximadamente quatro meses apenas, considerando que nos meses de

frio intenso as abelhas não saem das colmeias para coletar material para a produção da própolis (BANKOVA et al., 1998).

A variação sazonal pode levar à diminuição ou aumento de alguns componentes biologicamente ativos. Sendo assim, estima-se que atividades biológicas relacionadas a esses compostos sejam diferentes nas estações do ano (NUNES et al., 2009).

Não só no Brasil, mas em outros países, estudos foram realizados para verificar os possíveis fatores que ocasionam diferenças na constituição das própolis. Salatino et al. (2005) comentam que as própolis de regiões temperadas como o oeste da Ásia, Europa e América do Norte, possuem composição química semelhantes entre si, mas se diferenciam quando comparadas às própolis de regiões tropicais devido as diferenças não apenas de vegetação e clima, mas também a genética das abelhas.

O fator genético não é tão estudado quanto a vegetação e sazonalidade, mas pesquisas apontam que o mesmo também pode influenciar na constituição das própolis. Dessa forma, a genética das abelhas pode influenciar em suas preferências por uma determinada fonte vegetal.

Ikegaki (2001) e Silva et al. (2006) observaram em seus respectivos estudos que abelhas colocadas em um mesmo apiário produziram própolis de constituição química diferente. Este fato, provavelmente ocorreu pelas abelhas terem, no código genético, um ou mais grupos de genes que codifique a informação, sugerindo o tipo de vegetação que deva ser visitada. Por isso, é possível supor que mesmo abelhas habitando locais completamente distintos, apresentem o mesmo comando genético que as faça procurarem determinadas espécies de plantas fazendo delas insetos seletivos na coleta, e assim, originando própolis de mesma composição.

Muitos autores ressaltam a importância de estudos nas diferentes localidades onde há produção de própolis, devido cada região apresentar suas particularidades de clima, vegetação, dentre outros. Portanto, mais estudos devem ser realizados levando em consideração a maior quantidade de fatores possíveis para que mais respostas possam ser dadas em relação a constituição desta matéria prima.

1.5 COMPOSTOS FENÓLICOS

A principal classe de constituintes da própolis é a dos compostos fenólicos, em termos de ação farmacológica. Essas substâncias caracterizam-se por apresentar benzeno com um ou mais substituintes hidroxílico e possuírem estrutura química variável (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2007), dando origem a várias classes de compostos, apresentados no quadro 1.

Quadro 1 - Classificação dos compostos fenólicos de acordo com a estrutura básica

Esqueleto básico	Classe de compostos fenólicos
C6	Fenóis simples, benzoquinonas
C6-C1	Ácidos fenólicos
C6-C2	Acetofenonas e ácidos fenilacéticos
C6-C3	Fenilpropanoides: ácidos cinâmicos e compostos análogos, fenilpropenos, cumarinas, isocumarinas e cromonas
C6-C4	Naftoquinonas
C6-C1-C6	Xantonas
C6-C2-C6	Estilbenos, antraquinonas
C6-C3-C6	Flavonoides e isoflavonoides
(C6-C3)₂	Lignanas
(C6-C3-C6)₂	Diflavonoides
(C6)_n	Melaninas vegetais
(C6-C3)_n	Ligninas
(C6-C1)_n	Taninos hidrolisáveis
(C6-C3-C6)_n	Taninos condensados

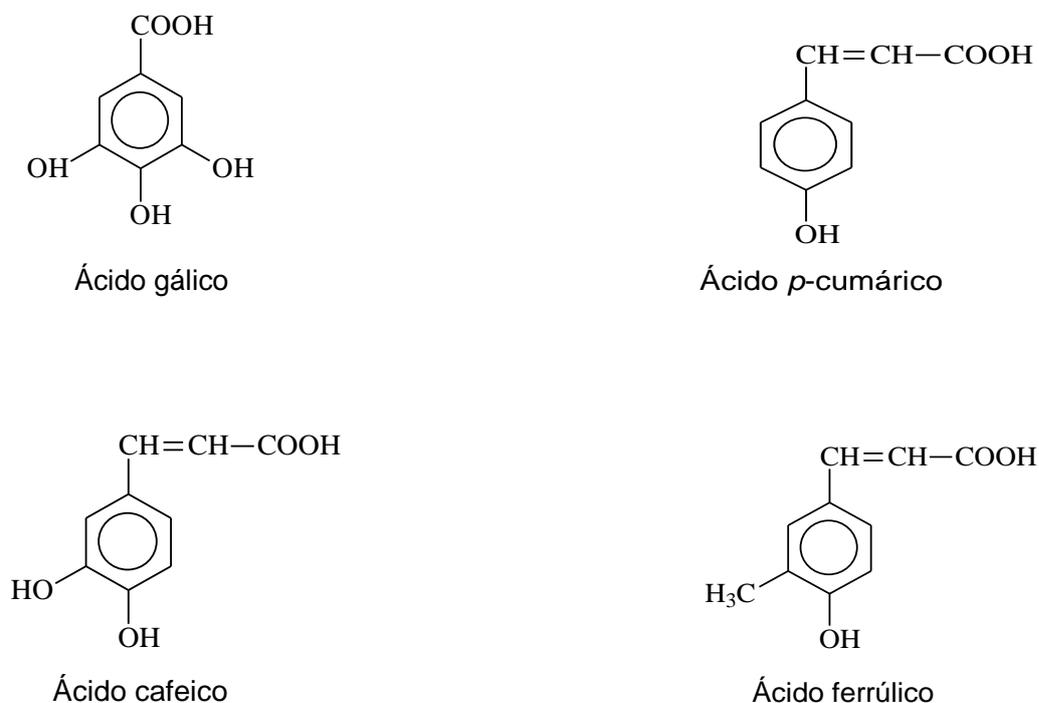
Fonte: Carvalho, Gosmann e Schenkel (2007).

Dentre os compostos bioativos, os fenólicos apresentam-se como um grupo de grande interesse, e representam os principais compostos secundários, amplamente difundidos nas plantas e microorganismos. Nos alimentos, esses compostos contribuem para a coloração, aroma, estabilidade oxidativa e adstringência (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2007).

Flavonoides seguido dos ácidos fenólicos são dois dos vários compostos fenólicos encontrados em própolis (Figura 1). Estudos recentes (MARCUCCI; WOISKY; SALATINO, 1998; NASCIMENTO et al., 2007) apontam que a própolis produzida no Brasil apresenta quantidades de ácidos fenólicos bem maiores do que

as de flavonoides, e esse talvez seja o porquê da enorme preferência do mercado internacional em relação a própolis brasileira.

Figura 1 - Fenólicos comumente encontrados nas própolis brasileiras



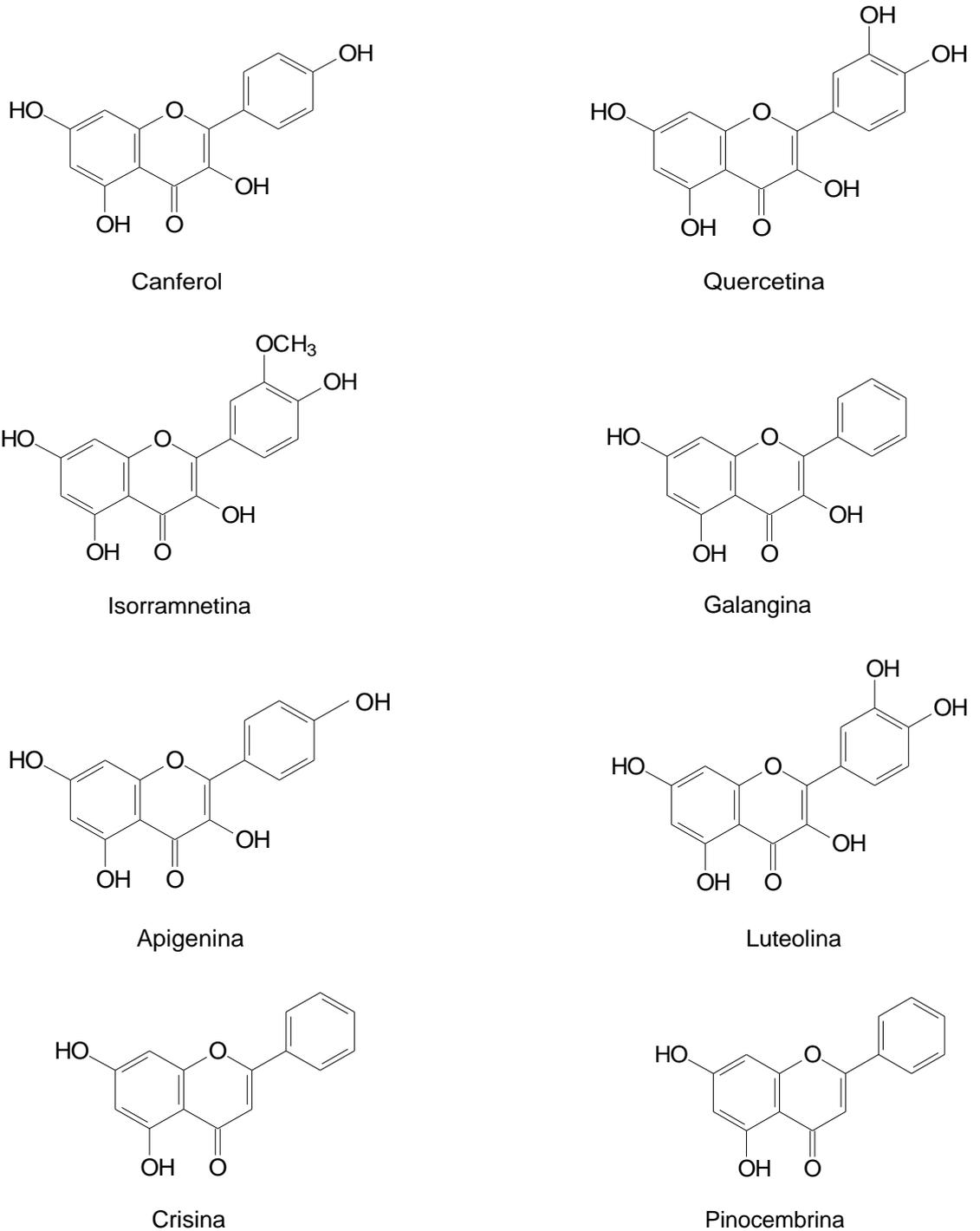
A caracterização dos compostos fenólicos é realizada por meio de análises dos fenólicos totais, pela quantificação individual ou de apenas um grupo de compostos. Devido à variação da solubilidade dos fenólicos, para se realizar a extração dos mesmos utiliza-se diferentes solventes, dentre eles os mais utilizados são: metanol, etanol, acetona, água, acetato de etila, propanol, dimetilformaldeído e combinações entre eles (SOUZA-SARTORI et al., 2013). Para a quantificação dos referidos compostos foram desenvolvidas diferentes técnicas espectrofotométricas, no entanto, em própolis, o método Folin-Ciocalteu (FOLIN; CIOCALTEU, 1927), por ser mais sensível aos fenóis e diminuir a tendência à precipitação, tem sido o mais utilizado.

1.6 FLAVONOIDES

Nas própolis brasileiras, os flavonoides comumente encontrados (Figura 2) são: canferol, quercetina, isorramnetina e galangina (flavonóis); apigenina, luteolina,

crisina e tectocrisina (flavonas); pinocembrina (flavanona) e pinobanksina (diidroflavonol).

Figura 2 - Flavonóides comumente encontrados nas própolis brasileiras



Em relação a identificação e quantificação de flavonoides em produtos naturais, existem diferentes métodos para se obter resultados. Porém, a maneira mais precisa é através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Por outro lado, quando se trata de controle de qualidade, é conveniente a utilização de técnicas mais simples e baratas porque, em geral, nesses casos são necessários procedimentos que permitam a análise rápida de muitas amostras. Portanto, uma das técnicas que se adequam nesse contexto é a determinação de flavonoides por espectrometria no ultravioleta - UV (MARCUCCI; WOISKY; SALATINO, 1998).

O cloreto de alumínio ($AlCl_3$) é utilizado como um reagente em espectrometria UV para determinar o teor de flavonoides. Sua utilização se baseia na reação do cloreto de alumínio com as flavonas e flavonóis, formando complexos estáveis com o cátion alumínio, Al (III), a carbonila e a hidroxila no flavonoide, provocando assim uma absorbância em maior comprimento de onda e uma notável mudança de coloração (POPOVA et al., 2004).

O 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNP) também é utilizado como reagente em espectrometria UV na quantificação de flavonoides, especificamente para flavanonas e diidroflavonóis. Este método baseia-se na reação do DNP com as carbonilas de cetonas e aldeídos para formar 2,4-dinitrofenilidrazonas (CHANG et. al, 2002). Outros métodos que não se utilizam de curva de calibração também são utilizados para a determinação de diferentes subclasses de flavonoides, como é o caso das antocianinas onde pode ser empregado soluções extratoras (ARAÚJO et al., 2007).

1.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Oxidação nada mais é do que o processo de perda de um ou mais elétrons para outra substância, e a transferência desses elétrons é fundamental para que as células do organismo sobrevivam. No entanto, o resultado disso é a produção de radicais livres e outros que podem ocasionar danos oxidativos (ALVES et al., 2010).

Radicais livres são moléculas produzidas durante os processos metabólicos, e assim como muitos composto estes também possuem diferentes papéis no organismo como, por exemplo, a produção de energia. Por outro lado, o excesso desses radicais apresenta efeitos deletérios, como mutação do material genético, processo de envelhecimento e degradação do tecido vivo, podendo causar nos seres humanos

doenças como: Alzheimer e Parkinson, entre outras. Para combater os radicais livres, os organismos produzem substâncias chamadas de antioxidantes, que também podem ser obtidas de fontes externas, através de alimentos e bebidas. A própolis, por sua vez, vem sendo estudada como alternativa para combater esse processo de oxidação (ALVES et al., 2010; PARK et al., 2014).

Do ponto de vista químico, os antioxidantes são moléculas capazes de retardar ou impedir o dano oxidativo no substrato. No que se refere ao mecanismo de combate aos radicais livres, eles podem ser classificados em: primário ou secundário. Outra classificação divide os antioxidantes em: sintéticos e naturais, sendo este último substâncias bioativas como: organosulfurados, fenólicos e terpenos, que fazem parte da constituição de muitos alimentos (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2014).

Para ser considerado um bom antioxidante, algumas características são necessárias, como: ter a presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical; capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura; e capacidade de sequestrar metais de transição implicados no processo oxidativo (SUCUPIRA et al., 2012). A atividade antioxidante de derivados vegetais tem sido avaliada por diferentes métodos: colorimétricos, biológicos e eletroquímicos, entre outros métodos instrumentais, como: cromatografia de camada delgada - CCD, cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE, bem como sistemas de injeção em fluxo - FIA (BORGES et al., 2011).

A capacidade antioxidante pode ser expressa por meio de vários parâmetros, incluindo a captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila – DPPH. Esse método é um dos mais utilizados para determinar a capacidade antioxidante *in vitro*. O método de branqueamento de β -caroteno, usado na avaliação do nível de inibição dos radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico, também é bastante conhecido (SUCUPIRA et al., 2012).

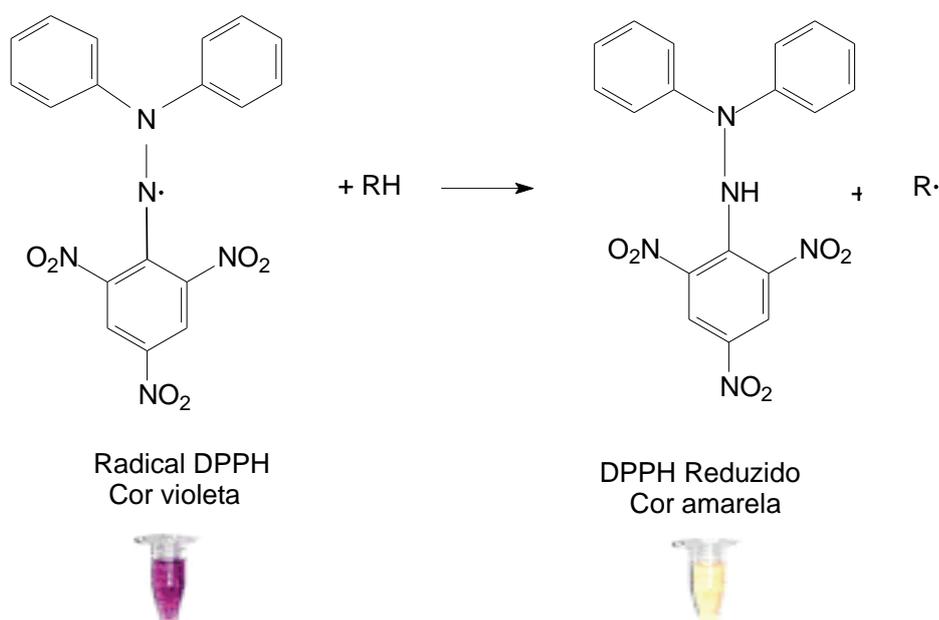
1.7.1 Método do radical DPPH

Entre os muitos métodos disponíveis para se analisar os antioxidantes, o radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) é bastante utilizado em estudos de compostos naturais, como a própolis. Este é um método químico aplicado para determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres, sendo um dos

mais utilizados, pois ele é considerado um método rápido, prático, reprodutivo e com boa estabilidade (SUCUPIRA et al., 2012).

De acordo com Borges et al. (2011) a molécula de DPPH é caracterizada como um radical de nitrogênio orgânico considerado livre, de coloração púrpura e estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula. A cor púrpura é perdida quando um radical de hidrogênio doado por um composto antioxidante entra em ressonância com a molécula de DPPH. A ação desse antioxidante faz com que o DPPH seja reduzido a difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente queda da absorbância (Figura 3). Por sua vez, a redução do DPPH é monitorada por esse decréscimo durante a reação, e a partir dos dados gerados, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante e/ou de DPPH restaram no meio reacional.

Figura 3 - Reação entre o radical livre DPPH e uma molécula antioxidante



1.7.2 Método de auto oxidação do β -caroteno/ácido linoleico

O método de auto oxidação do β -caroteno/ácido linoleico é comumente utilizado para determinar a capacidade antioxidante *in vitro* de alguns compostos, inclusive de extratos de própolis. Este é realizado em comprimento de onda de aproximadamente 470 nm, baseado na leitura da descoloração da solução preparada

com β -caroteno e ácido linoleico em meio aquoso. Essa descoloração ocorre devido às estruturas radicalares formadas pela oxidação do ácido linoleico, atacarem as duplas ligações do β -caroteno, assim, perdendo seu cromóforo e resultando na descoloração do pigmento alaranjado, característico da solução. O ácido linoleico é protegido pela presença de antioxidantes no sistema, prolongando o período de formação dos radicais. Portanto, o método avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico (SUCUPIRA et al., 2012).

2 OBJETIVOS

Diante da grande potencialidade de estudos com própolis e a falta de dados sobre este produto no estado de Roraima, este trabalho possui os seguintes objetivos:

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a própolis produzida em Roraima por *Apis mellifera* em áreas de floresta e savana e em períodos de chuva e seca, com base na composição química e atividade antioxidante.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a produção de própolis;
- Determinar o teor de fenólicos e flavonoides;
- Avaliar o potencial antioxidante da própolis por diferentes técnicas;
- Verificar a correlação do teor de fenólicos e flavonoides na atividade antioxidante.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com estudos da composição química e atividade antioxidante de própolis proveniente de diferentes áreas de Roraima. Todas as análises foram realizadas no laboratório de Biotecnologia e Química Fina (Departamento de Química). Neste capítulo serão apresentados os principais materiais e equipamentos utilizados no desenvolvimento deste trabalho, bem como as metodologias experimentais empregadas.

3.1 COLETA E LOCALIZAÇÃO

As amostras de própolis foram coletadas entre o período de 2015 e 2016 em seis apiários de abelhas *Apis mellifera* localizados em diferentes regiões do estado de Roraima. E os quadros coletores de própolis utilizados foram do tipo cobertura, medindo 50 x 30 cm e com duas aberturas de 1,5 cm nas laterais de maior comprimento. Colocou-se os coletores entre a melgueira e o ninho de cada uma das colmeias (Figura 4).

Figura 4 - Posição dos quadros coletores de própolis nas colmeias de *Apis mellifera*



Os coletores de própolis foram colocados em cada um dos seis pontos de coleta na segunda quinzena do mês de abril de 2015 e foram retirados em setembro do mesmo ano para a obtenção das amostras de própolis referentes ao período chuvoso.

Uma vez as amostras coletadas dos quadros, os mesmos retornaram às colmeias nos pontos de coleta e na segunda quinzena de janeiro de 2016 foram retiradas as amostras referentes ao período seco. Desta forma, a coleta da própolis dos quadros foi realizada em intervalos de aproximadamente quatro meses utilizando a técnica convencional de raspagem (Figura 5).

Figura 5 - Coleta de própolis dos quadros coletores através de raspagem com espátula inox



As laterais de cada quadro coletor de própolis, originalmente abertas, foram modificadas, ou seja, fechadas com fita adesiva transparente (Figura 6). O objetivo dessa vedação foi estimular as abelhas a fechar rapidamente as frestas do coletor usando a própolis, para evitar a interferência de eventos externos (entrada de invasores, poeira, ventos fortes) e, também para a obtenção de placas de própolis com poucas impurezas.

No entanto, um mês após a colocação dos quadros com a adaptação citada, verificou-se que as abelhas não estavam produzindo própolis, provavelmente devido ao período chuvoso com precipitação reduzida na região, o que levou à escassez de água, e conseqüentemente de alimentos para as abelhas. E também devido a manutenção da temperatura interna da colmeia proporcionado pela vedação lateral dos quadros.

Devido ao insucesso na coleta de própolis, foi realizada outra adaptação nos quadros coletores: colocou-se “talos” finos de buriti (*Mauritia flexuosa*) no lugar da fita

adesiva, de forma que os mesmos preenchesse metade das aberturas laterais (Figura 7). A diminuição desses espaços induziu as abelhas a preenche-los com própolis. Acredita-se que, como a abertura foi vedada, a luz solar e o vento que adentravam as colmeias instigou as abelhas a realizar a vedação da abertura com própolis para manter a temperatura interna das colmeias e dificultar a entrada de predadores.

Figura 6 - Coletor de própolis de cobertura adaptado com fita adesiva transparente



Figura 7 - Coletor de própolis de cobertura adaptado com “talos” de buriti (*Mauritia flexuosa*)



Os coletores foram colocados de maneira aleatória em cinco colmeias de cada um dos seis apiários com as fitofisionomias desejadas para a pesquisa. As cinco sub amostras provenientes de cada apiário foram unificadas para a obtenção de seis amostras compostas. Três dos apiários estão localizados em áreas de savana: dois

em Boa Vista (Figuras 8 e 9) e um no Bonfim (Figura 10). Os outros três estão localizados em áreas de floresta, um em cada município: Boa Vista (Figura 11), Mucajaí (Figura 12) e Caracaraí (Figura 13).

Figura 8 - Localização geográfica do apiário situado no município de Boa Vista – região do Monte Cristo: área de savana. Coordenadas: N 02°52'08.5" / W 060°42'58.8"



Fonte: Google maps (2015).

Figura 9 - Localização geográfica do apiário situado no município de Boa Vista – região do PA Nova Amazônia: a área de savana. Coordenadas: N 03°06'14.3" / W 060°51'32.5"



Fonte: Google maps (2015).

Figura 10 - Localização geográfica do apiário situado no município de Bonfim – região da Confiança: área de savana. Coordenadas: N 02°56'00.0" / W 060°21'27.6"



Fonte: Google maps (2015).

Figura 11 - Localização geográfica do apiário situado no município de Boa Vista – região do Alvorada: área de floresta. Coordenadas: N 02°42'34.2" / W 060°44'37.1"



Fonte: Google maps (2015).

Figura 12 - Localização geográfica do apiário situado no município de Mucajaí – região do Tamandaré: área de floresta. Coordenadas: N 02°27'01.4" / W 060°54'27.9"



Fonte: Google maps (2015).

Figura 13 - Localização geográfica do apiário situado no município de Caracaraí – região do Novo Paraíso: área de floresta. Coordenadas: N 01°16'06.2" / W 060°21'31.4"



Fonte: Google maps (2015).

A coleta das amostras de própolis foi realizada *in loco* respeitando as condições de higiene necessárias para evitar a contaminação do material, e ainda *in natura* foram submetidas à limpeza manual, onde retirou-se qualquer tipo de material estranho antes de armazená-las em recipiente de vidro higienizado e identificado.

As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Biotecnologia e Química Fina, onde foram pesadas (Figura 14), e em seguida identificadas (Quadro

2). Após, as amostras foram devidamente armazenadas sob refrigeração a -18 °C até a preparação dos extratos.

Figura 14 - Pesagem da própolis *in natura* acondicionada em recipiente de vidro



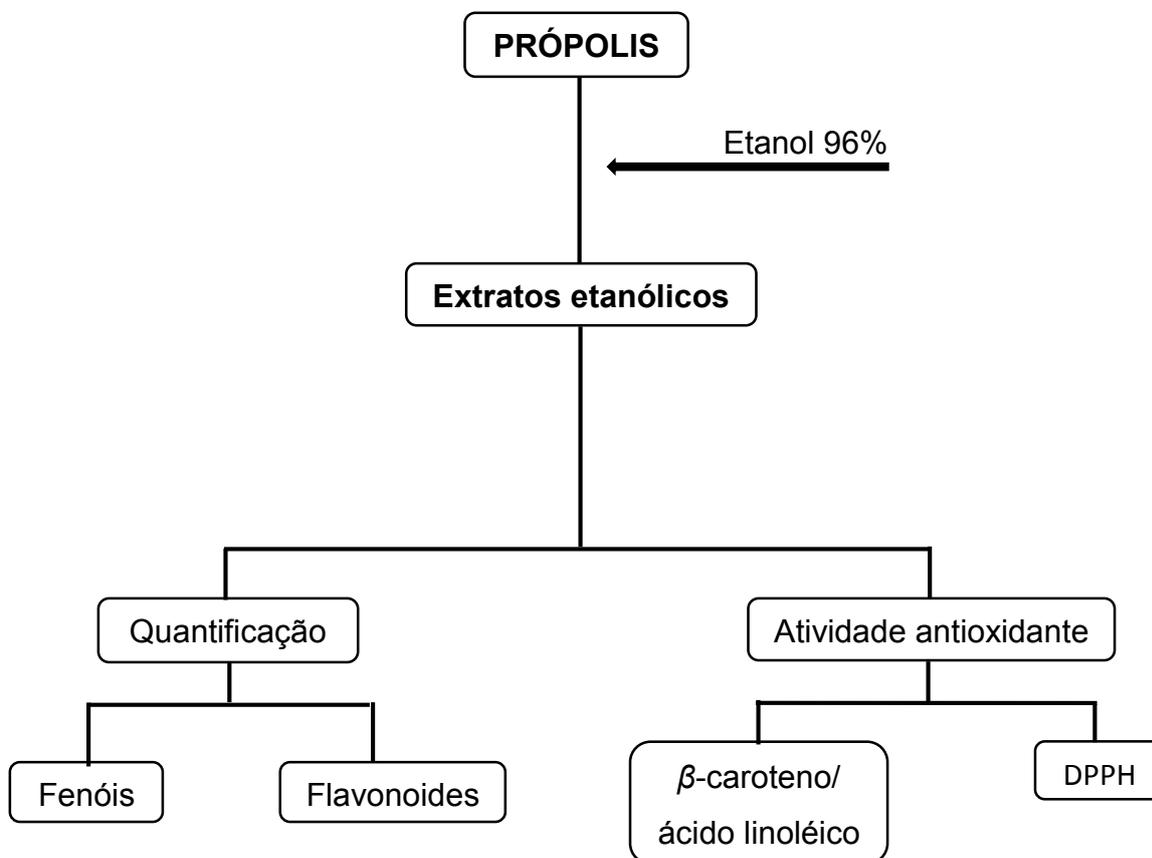
Quadro 2 - Codificação utilizada para identificação dos locais de coleta de própolis

FITOFISIONOMIA	LOCAL	CÓDIGO
Floresta	Boa Vista (Alvorada)	BVA
	Mucajaí (Tamandaré)	MJ
	Caracaraí (Novo Paraíso)	CR
Savana	Boa Vista (PA Nova Amazônia)	BVM
	Boa Vista (Monte Cristo)	BVC
	Bonfim (Confiança)	BF

3.2 EXTRAÇÃO

As amostras de própolis foram separadas para extração etanólica e posteriores análises, conforme a figura 15.

Figura 15 - Esquema da extração etanólica realizada com as própolis coletadas



3.2.1 Obtenção dos extratos etanólicos

As seis amostras de própolis *in natura* obtidas nos períodos seco e chuvoso foram armazenada por 48h sob refrigeração a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Logo após foram maceradas, separadamente, com o auxílio de gral e pistilo (Figura 16) e, devidamente identificadas.

Em erlenmeyer's de 125 mL foram colocados 2 g de própolis e adicionados 100 mL de etanol P.A., no entanto, houveram exceções: devido à baixa produção de própolis de BF no período chuvoso (0,62 g) foi necessária a adição de um volume proporcional de solvente à amostra, 50 mL. No período seco, mesmo a amostra MJ tendo apresentado uma produção de 1,64 g, foram adicionados 100 mL de solvente como nas demais amostras.

Em seguida, realizou-se a extração sob agitação em incubadora Shaker (230 rpm/min) à 35°C , por seis horas. Após a agitação, os erlenmeyer's com as soluções

foram envoltos por papel alumínio e mantidos ao abrigo da luz por quatro dias. Posteriormente, as soluções foram agitadas manualmente e filtradas com o auxílio de funil e algodão para um balão volumétrico de 100 mL. O volume dos balões foi completado com o etanol e a solução transferida para frascos âmbar de 100 mL, devidamente identificados e mantidos sobre refrigeração a -18°C .

Figura 16 - Própolis bruta em processo de maceração



3.3 ANÁLISES ESPECTROFOTOMÉTRICAS

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

3.3.1 Teor de fenólicos

O teor de fenólicos dos extratos etanólicos foi determinado de acordo com o método usando o reagente Folin-Ciocalteu (FOLIN; CIOCALTEU, 1927). Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico/g de própolis.

3.3.1.1 Curva de calibração

A curva de calibração foi construída a partir de uma solução estoque de ácido gálico (FOLIN; CIOCALTEU, 1927; PONTIS et al., 2014). Pesou-se 1 mg de ácido gálico, acrescentou-se metanol P.A para dissolver, transferiu-se a mistura para um balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com o solvente. Desta solução, pipetou-se alíquotas crescentes (10, 20, 30, 40 e 50 μL) em balões volumétricos de 5 mL, adicionou-se 300 μL do reagente de Folin-Ciocalteu, 2 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (15%) e completou-se o volume final com água destilada. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro UV-visível à 798 nm (Apêndice 1).

3.3.1.2 Doseamento das amostras

O doseamento das amostras foi realizado de acordo com o período da coleta e suas alíquotas foram adequadas à curva de calibração. Para as amostras referentes ao período chuvoso, misturou-se em balões volumétricos de 5 mL alíquotas de 100 μL da solução dos extratos preparados anteriormente, 300 μL de Folin-Ciocalteu e 2 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (15%) e completou-se o volume final com água destilada. O mesmo procedimento foi realizado para as amostras BVA, BVC e MJ referentes ao período seco, no entanto, as alíquotas utilizadas das soluções dos extratos foram de 50 μL .

Devido a maior concentração de fenólicos presentes nas amostras BF, BVM e CR referentes ao período seco estas tiveram um tratamento diferenciado. Em balões volumétricos de 10 mL colocou-se 1 mL das soluções dos extratos e completou-se o volume com etanol P.A. Desta solução diluída, pipetou-se para um balão volumétrico de 5 mL alíquotas de 100 μL para as amostras BF e BVM, e de 200 μL para CR. Em seguida acrescentou-se 300 μL do reagente de Folin-Ciocalteu e 2 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (15%). O volume final foi completado com água destilada.

O branco das amostras foi constituído por 300 μL do reagente de Folin-Ciocalteu, 2 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (15%) e o volume do balão de 5 mL completado com água destilada. As amostras foram mantidas ao abrigo da luz por duas horas, posteriormente foram centrifugadas por dez minutos à 3600

rpm/min., e em seguida realizada a leitura de suas absorvâncias em espectrofotômetro UV-visível à 798 nm (Apêndice 2).

3.3.2 Teor de flavonoides

O teor de flavonoides totais foi determinado com o somatório dos resultados de três métodos espectrofotométricos: um deles utilizado para determinar flavonas e flavonóis, um usando o reagente 2,4-dinitrofenilidrazina para determinar flavanonas e diidroflavonóis e o outro para quantificar antocianinas. Foram realizados ensaios de doseamento das amostras e os resultados foram expressos em mg de quercetina/g de própolis para flavonas e flavonóis, mg de pinocembrina/g de própolis para flavanonas e diidroflavonóis e mg de antocianinas/100 g de própolis para antocianinas (PONTIS et al., 2014).

3.3.2.1 Teor de flavonas e flavonóis

O teor de flavonas e flavonóis foi determinado pelo método espectrofotométrico usando cloreto de alumínio - $AlCl_3$ (DOWD, 1959; PONTIS et al., 2014).

3.3.2.1.1 Curva de calibração

A curva de calibração para a análise foi construída a partir da quercetina: uma solução aquosa de $AlCl_3$ a uma concentração de 5% foi preparada em balão volumétrico de 100 mL e a solução etanólica de quercetina à 1 mg/mL em balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, transferiu-se alíquotas crescentes da solução de quercetina (10, 15, 20, 25 e 30 μ L) para balões volumétricos de 5 mL, acrescentou-se 3 mL de solução de $AlCl_3$ e completou-se o volume com etanol P.A. As absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro UV-visível à 441 nm (Apêndice 3).

3.3.2.1.2 Doseamento das amostras

Para o doseamento das amostras usou-se diferentes alíquotas para adequá-las à curva de calibração. Para tanto, em balão volumétrico de 5 mL pipetou-se 500 µL do extrato de própolis de todas as amostras referentes ao período chuvoso e das amostras BF, BVC, BVA e MJ referentes ao período seco. Para as amostras BVM e CR coletadas no período seco pipetou-se 50 e 100 µL, respectivamente. Em seguida, acrescentou-se 2 mL de solução de cloreto de alumínio e completou-se o volume com etanol P.A.

O branco das amostras foi constituído da mistura de 500 µL de extrato e o volume foi completado com etanol P.A. Após 30 minutos ao abrigo da luz, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos à 3600 rpm/min., e suas absorbâncias lidas à 441 nm (Apêndice 4).

3.3.2.2 Teor de flavanonas e diidroflavonóis

O teor de flavanonas e diidroflavonóis foi determinado pelo método espectrofotométrico usando o reagente 2,4-dinitrofenilidrazina (TYLKOWSKI et al., 2010), adaptado por Pontis et al. (2014).

3.3.2.2.1 Curva de calibração

A curva de calibração foi obtida com a pinocembrina. Para isso, preparou-se soluções de hidróxido de potássio - KOH à 10% [metanol/água (7:3)] e de pinocembrina à 1 mg/mL em metanol. O reagente 2,4 – dinitrofenilidrazina (DNP) foi seco em estufa (60 °C) por três horas. Depois de frio, retirou-se 0,5 g de DNP, adicionou-se metanol e 1 mL de ácido sulfúrico à 96%. A mistura foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL e completada com metanol. Depois das soluções prontas, em tubos de ensaio pipetou-se 400 µL da solução de pinocembrina e da solução de DNP. As misturas foram mantidas à 50 °C por 50 minutos. Após esfriar, foram acrescentados 2,8 mL da solução de KOH. A partir desta mistura foram pipetadas para balões volumétricos de 5 mL alíquotas de 25, 50, 75, 100, 125, 150,

175 e 200 μL que foram diluídas até o menisco com metanol. As absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro UV-visível à 493 nm (Apêndice 5).

3.3.2.2.2 *Doseamento das amostras*

Para o doseamento das amostras, diferentes alíquotas foram pipetadas a fim de adequá-las à curva de calibração. Logo, em tubos de ensaio pipetou-se 200 μL de extrato referente às amostras coletadas no período chuvoso e, 200 μL de extrato das amostras coletadas no período seco, com exceção de BVM e CR, no qual foram pipetados apenas 50 μL de extrato. Após, adicionou-se 400 μL de solução de DNP. As misturas foram mantidas à 50°C por 50 minutos. Após esfriar, foram acrescentados 1,4 mL de solução de KOH. A partir desta solução foram pipetadas para balões volumétricos de 5 mL alíquotas de 150 μL que foram diluídas até o menisco com metanol. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos à 3600 rpm/min., e em seguida, as absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro UV-visível à 493 nm (Apêndice 6).

O branco sofreu os mesmos procedimentos das amostras e foi constituído do mesmo doseamento, com exceção da alíquota referente aos extratos. Após a diluição, as absorvâncias foram lidas à 493 nm.

3.3.2.3 Teor de antocianinas

Para a determinação do teor de antocianinas foi utilizada a metodologia de Araújo et al. (2007).

3.3.2.3.1 *Doseamento das amostras*

Utilizou-se 20 mg de cada amostra de própolis macerada que foi submetida à extração com solução extratora de ácido clorídrico (HCl) 1,5 N + etanol 95% (85:15), com exceção da amostra MJ coletada no período seco e da amostra BF coletada no período chuvoso, devido ausência de própolis. As soluções resultantes foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL e seu volume completado com a

solução extratora. Em seguida foram transferidas para tubos de ensaios e deixadas ao abrigo da luz por 24 horas. Posteriormente, as soluções foram filtradas com funil e algodão, e em seguida centrifugadas por 10 minutos à 3600 rpm/min. Logo após, os ensaios foram submetidos à leitura em espectrofotômetro UV-visível à 535 nm (Apêndice 7).

O branco foi constituído apenas de solução extratora, que sofreu o mesmo procedimento das amostras. Os resultados foram expressos de acordo com a equação descrita abaixo.

$$\text{Antocianinas} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{\text{Abs} \times \text{FD}}{98,2}$$

Onde:

- Abs = Absorbância das amostras;
- FD = Fator de diluição (razão da massa da amostra pelo volume final de solução).

3.3.3 Avaliação da ação sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

A determinação da atividade antioxidante foi realizada através da redução do radical livre DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazila) pelos antioxidantes presentes nas amostras e quantificada a partir da curva de calibração utilizando o trolox como padrão de antioxidante (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; RUFINO et al., 2007) com algumas adaptações.

3.3.3.1 Curva de calibração

Inicialmente, preparou-se as soluções de DPPH (radical 2,2-difenil-picril-hidrazila) e trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico). Estas foram preparadas e utilizadas dentro de 24 horas, conforme a metodologia citada.

A solução de DPPH foi preparada a uma concentração de 0,06 mM, para tanto pesou-se 4,8 mg de DPPH, adicionou-se etanol P.A., transferiu-se a mistura para um balão volumétrico de 200 mL e o volume foi completado com o solvente. Homogeneizou-se a solução manualmente e sua absorvância foi ajustada para ficar entre 0,5 e 0,6 à 515 nm através da adição de solvente.

A solução de trolox foi preparada na concentração de 5 μ M. Pesou-se 1,25 mg de trolox, adicionou-se etanol P.A., transferiu-se a mistura para um balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume do balão com o solvente.

Pipetou-se para balões volumétricos de 5 mL alíquotas crescentes da solução de trolox para a construção da curva de calibração referente aos dois períodos e áreas de coleta (Quadro 3). Após, acrescentou-se 4 mL de solução de DPPH preparada e completou-se o volume com etanol P.A. Após 30 minutos ao abrigo da luz, submeteu-se as alíquotas à leitura em espectrofotômetro UV-visível à 515 nm (Apêndices 8, 9 e 10), sendo o etanol P.A. utilizado como branco.

Quadro 3 - Alíquotas da solução de trolox utilizadas na curva de calibração

PERÍODO	ALÍQUOTAS (μ L)	
	Savana	Floresta
Chuvoso	35, 70, 105, 125, 140 e 155	35, 70, 105, 140, 175 e 210
Seco	5, 35, 70, 105 e 140	5, 35, 70, 105 e 140

3.3.3.2 Doseamento das amostras

Pipetou-se 4 mL da solução preparada de DPPH em balões de 5 mL e acrescentou-se diferentes alíquotas de extrato (Quadro 4), para adequá-las à curva de calibração, de acordo com recomendações de Nenadis et al. (2004), adaptado. Em seguida, completou-se o volume dos balões com etanol P.A.

Para a determinação do percentual de descoramento, em um balão de 5 mL preparou-se uma amostra controle contendo 4 mL da solução de DPPH e etanol P.A até completar o volume. O branco das amostras foi constituído apenas de etanol P.A. Após 30 minutos de reação ao abrigo da luz, as absorvâncias das soluções: amostra, branco e controle foram medidas em espectrofotômetro UV-visível à 515 nm (Apêndice 11). Todos os procedimentos foram realizados em ambiente escuro. Os

resultados foram obtidos através da curva de calibração e foram expressos em μmols equivalente de Trolox/g de própolis.

Quadro 4 - Alíquotas de extrato de própolis utilizadas no doseamento das amostras

PERÍODO	ALÍQUOTAS (μL)					
	BVC	BVM	BF	BVA	MJ	CR
Chuvoso	105	85	85	40	90	10
Seco	136	15	5	10	4	112

3.3.4 Auto oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

A capacidade dos extratos etanólicos de própolis em prevenir a oxidação do β -caroteno foi avaliada de acordo com metodologia descrita por Emmons, Peterson e Paul (1999), com algumas adaptações (ROCKENBACH et al., 2008).

Inicialmente foi preparada uma solução de β -caroteno (10 mg/mL). Em seguida, em um erlenmeyer foram misturadas alíquotas de 40 μL de ácido linoleico, 265 μL de Tween 80, 50 μL de solução β -caroteno e 1 mL de clorofórmio. Após, o clorofórmio foi removido com a utilização de corrente de gás nitrogênio e o resíduo obtido foi redissolvido em aproximadamente 100 mL de água aerada. A emulsão formada (sistema β -caroteno/ácido linoleico) se apresentou límpida e sua absorbância foi ajustada para ficar entre 0,7 e 0,6 nm à 470 nm.

Posteriormente, uma alíquota de 100 μL dos extratos etanólicos das amostras coletadas no período chuvoso e das amostras MJ, BVA, BVC e BF coletadas no período seco foram pipetadas para balões volumétricos de 5 mL. Das amostras BVM e CR, referentes ao período seco, foram pipetadas apenas 20 μL de extrato etanólico devido à alta turbidez na solução. Em seguida, o volume de 5 mL dos balões foi completado com emulsão β -caroteno/ácido linoleico. Os mesmos foram homogeneizados manualmente e mantidos em banho-maria à 40 °C por 120 minutos. Passados dois minutos (tempo 0 min) de aquecimento, a oxidação da emulsão foi monitorada em espectrofotômetro UV-visível à 470 nm (Apêndice 12). Após esta primeira leitura, as soluções continuaram sendo monitoradas a cada 15 minutos até completar 120 minutos.

Para o controle foi utilizado o sistema de 5 mL de emulsão β -caroteno/ácido linoleico (sem antioxidante). Para o controle positivo preparou-se uma solução de trolox (1 mg/mL) em metanol e, desta solução pipetou-se 50 μ L para um balão de 5 mL e completou-se até o menisco com emulsão. Tanto o sistema como o controle sofreram os mesmos procedimentos feitos com as amostras.

Todo o processo descrito acima foi realizado em ambiente escuro e a atividade antioxidante (AA) foi expressa como percentual de inibição relativa comparada ao controle depois de 120 minutos, de acordo com a expressão a seguir (EMMONS; PETERSON; PAUL, 1999).

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

Onde:

- DRc = Taxa de degradação do controle (sistema) $[(\ln (a/b)/120)]$;
- DRs = Taxa de degradação na presença do padrão ou extrato $[(\ln (a/b)/120)]$;
- ln = Logaritmo natural;
- “a” e “b” são as absorbâncias no tempo inicial (0 min) e no tempo final (120 min).

3.4 ESTATÍSTICA

Foram consideradas como variáveis independentes os períodos climáticos (seco e chuvoso) e as fitofisionomias (floresta e savana). Como variáveis dependentes, considerou-se a produtividade e os componentes bioativos analisados: fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante.

Os dados foram submetidos à ANOVA e à comparação de médias pelo Teste de Tukey à 5% de probabilidade estatística. Para tal, utilizou-se o programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2008). Também realizou-se a análise de coeficiente de Correlação de Pearson para verificar a ocorrência de correlações entre os componentes bioativos utilizando o programa computacional Microsoft Office Excel 2013.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A vegetação e sazonalidade regional são alguns dos principais fatores que podem causar variação nas características físicas, químicas e biológicas da própolis. Dessa forma, realizou-se o presente estudo visando a obtenção de dados científicos em relação a algumas características da própolis produzida em Roraima por *Apis mellifera* em áreas de floresta e savana e em períodos de chuva e seca. Os resultados podem ser observados nos itens a seguir.

4.1 PLUVIOSIDADE: PERÍODOS DE COLETA

A sazonalidade é um fator bastante relacionado às diferenças na constituição das própolis, e sua variação pode levar à diminuição ou aumento de alguns componentes biologicamente ativos (NUNES et al., 2009). No quadro 5 pode-se observar os resultados estimados para a precipitação mensal acumulada dos locais e períodos de coleta, a partir de dados disponibilizados pelo INMET (2016).

Quadro 5 - Dados estimados para a precipitação mensal acumulada (mm/mês) de 01/04/2015 a 31/01/2016 dos locais de coleta nos períodos chuvoso e seco

Amostra	2015										2016
	Mês 04	Mês 05	Mês 06	Mês 07	Mês 08	Mês 09	Mês 10	Mês 11	Mês 12	Mês 01	
BVA	40-50	150 -200	40-50	150 -200	30-40	20-30	0-10	20-30	20-30	20-30	
MJ	40-50	150 -200	40-50	150 -200	30-40	20-30	0-10	20-30	20-30	20-30	
CR	150 -200	150 -200	150-200	120 -150	70-90	40-50	10-20	30-40	30-40	30-40	
BVM	20-30	150 -200	30-40	150 -200	10-20	0-10	0-10	10-20	10-20	0-10	
BVC	20-30	150 -200	30-40	150 -200	10-20	0-10	0-10	10-20	10-20	0-10	
BF	20-30	150 -200	30-40	150 -200	10-20	0-10	0-10	10-20	10-20	0-10	

Legenda: BVA a CR área de floresta; BVM a BF área de savana. MJ= Mucajaí/Tamandaré; CR= Caracarái/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Fonte: INMET (2016).

Nota-se a ocorrência de precipitação em todos os locais e durante todo o período de coletas. Nos meses referentes ao período seco (15/09/2015 a 30/01/2016), mesmo em volumes menores, o que já se esperava devido às características da região, houve presença de chuvas. De maneira geral, o destaque entre as localidades foi para CR, e para BVC e BF, com maior e menores índices pluviométricos, respectivamente, durante toda a pesquisa.

4.2 COLORAÇÃO DAS PRÓPOLIS

A própolis apresenta coloração entre amarela, parda, vermelha, verde, cinza e marrom, com suas respectivas variações de tonalidade. Isso se deve, principalmente, às diferentes fontes vegetais visitadas pelas abelhas em busca de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas para auxiliar na elaboração desse produto apícola (BRASIL, 2001). Neste estudo, notou-se diferenças na coloração das amostras no momento em que se realizou a extração etanólica com as própolis coletadas em áreas de floresta e savana, nos períodos climáticos estudados, conforme pode-se observar na figura 17.

Apesar da comparação apenas visual é notável a variação de tonalidades entre os extratos analisados. É importante salientar, que não foi estudada qualquer relação entre as cores e a atividade química ou biológica das amostras. Esse esclarecimento é importante devido ao valor comercial da própolis encontrar-se relacionado com algumas características físicas, como a coloração, tanto do extrato quanto da matéria prima.

No período seco, o extrato etanólico de própolis proveniente de MJ apresentou coloração amarelada; o de BF com nuance de vermelho; os de BVA e BVC castanho claro; e os de CR e BVM tons de castanho escuro e marrom, respectivamente. Dentre os extratos coletados no período chuvoso, os de MJ e BVA exibiram tons amarelados; os de CR castanho escuro; e os de BVM, BVC e BF tons de castanho claro.

No quadro 6 abaixo, os valores relacionados a produção de própolis podem ser observados. Ressalta-se que as amostras foram coletadas em intervalos de quatro meses.

Quadro 6 - Produção de própolis (g) nas áreas de savana e floresta nos períodos seco e chuvoso

FITOFISIONOMIA	LOCAL	PRODUÇÃO (g)	
		Período Chuvoso	Período Seco
Floresta	BVA	65,51	59,81
	MJ	13,29	1,64
	CR	55,40	55,76
	Total	134,20	117,21
Savana	BVM	8,66	78,42
	BVC	20,99	13,42
	BF	0,62	14,72
	Total	30,27	106,56

Legenda: MJ= Mucajá/Tamandaré; CR= Caracará/ Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Nas áreas de floresta, observando a produção de cada amostra dentro dos períodos climáticos analisados, BVA se destacou tanto no período seco quanto no chuvoso, com 65,51 g e 59,81 g, respectivamente. Nas áreas de savana, a maior produção foi observada no período chuvoso em BVC (20,99 g) e no seco em BVM (78,42 g).

Quando comparado o total da produção referente às fitofisionomias, nas áreas de floresta a maior quantidade ocorreu no período chuvoso (134,20 g), enquanto que na savana a maior produção foi observada durante o período seco (106,56 g). Considerando apenas os períodos climáticos analisados, o chuvoso apresentou menor produção (164,47 g) em relação ao seco (223,77 g).

Dados de pesquisa relacionando produção de própolis à fitofisionomias e períodos climáticos em diferentes localidades não foram encontrados nas literaturas consultadas. No entanto, Loureiro et. al. (2013) coletando amostras de própolis de *Apis mellifera* em sete apiários comerciais, sendo escolhidas aleatoriamente duas colmeias em cada um, durante um ano nos municípios de Conquista D'Oeste e Comodoro na região sudoeste de Mato Grosso, localizados na transição dos biomas Amazônia e Cerrado, verificaram que, nos dois apiários de Conquista D'Oeste a

produção média de própolis foi de 24,50 g e 21,48 g, respectivamente. E em Comodoro, nos cinco apiários analisados a produção variou de 13,81 a 37,62 g.

Puker et al. (2010) estudando os efeitos sazonais sobre a produção de própolis em cinco colmeias de um apiário de *A. mellifera* a cada dois meses no ecótono Cerrado-Pantanal, no Mato Grosso do Sul, observaram que de janeiro a novembro a produção de própolis variou em média de 40,3 a 94,9 g.

Enoue et al. (2007), em suas pesquisas avaliaram a produção de própolis utilizando diferentes tipos de coletores e o efeito da sazonalidade em 15 colmeias de um apiário de *Apis mellifera*. E utilizando a técnica convencional de raspagem, a produção média mensal obtida foi de 155,3 g no outono, 42,8 g na primavera, 68,5 g no verão e 76,1 g no inverno, observando-se que a sazonalidade interferiu na produção da própolis.

Os resultados dos autores supracitados sugerem que não apenas o clima, mas também o tipo de vegetação no entorno dos apiários pode influenciar na produção de própolis. Fato este também observado nesta pesquisa.

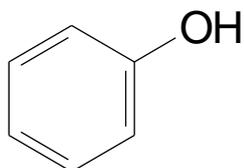
4.4 ANÁLISE DE FENÓLICOS, FLAVONÓIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Nos itens a seguir poderão ser observados os resultados das análises desenvolvidas para a quantificação de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em amostras de própolis coletadas em diferentes fitofisionomias e períodos climáticos.

4.4.1 Teor de fenólicos

Os compostos fenólicos têm origem a partir do metabolismo secundário das plantas e são caracterizados como antioxidantes naturais. Estes abrangem compostos que incluem uma diversidade de estruturas que variam de simples à complexas, onde há ao menos uma hidroxila ligada ao benzeno (Figura 18).

Figura 18 - Estrutura básica de um composto fenólico



Avaliando a interação amostras de própolis x períodos climáticos (Quadro 7), observa-se que estatisticamente ocorreu diferença significativa ($p \leq 0,05$) para a concentração de fenólicos em ambos períodos e fitofisionomias.

Quadro 7 - Valores médios dos compostos fenólicos (mg ácido gálico/g própolis) em amostras de própolis dos períodos seco e chuvoso das áreas de floresta e savana

AMOSTRA	FLORESTA	
	Chuvoso	Seco
MJ	1,62 Bb	6,39 Ca
CR	11,39 Ab	22,05 Aa
BVA	12,14 Aa	9,67 Bb
SAVANA		
BF	40,89 Ab	59,55 Aa
BVC	9,10 Ba	11,40 Ba
BVM	6,83 Bb	16,05 Ba

Legenda: Letras minúsculas diferentes na mesma linha (período climático) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (locais) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. MJ= Mucajaí/Tamandaré; CR= Caracaraí/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Considerando as localidades e períodos climáticos, pode-se verificar que na área de floresta a concentração de fenólicos para BVA (12,14 mg/g) foi significativamente ($p \leq 0,05$) maior no período chuvoso, enquanto que CR (22,05 mg/g) se destacou no período seco. Analisando apenas os períodos, CR (11,39 mg/g) e BVA (12,14 mg/g) não apresentaram diferença estatística entre si no chuvoso, mas se destacaram em relação a MJ (1,62 mg/g). No período seco, observou-se diferença entre todas as amostras, com destaque para CR (22,05 mg/g).

Nas áreas de savana, a concentração de fenólicos foi significativamente maior ($p \leq 0,05$) para BVM (16,05 mg/g) e BF (59,55 mg/g) no período seco, enquanto BVC não diferiu estatisticamente entre os períodos (9,10 e 11,40 mg/g). BF (40,89 mg/g)

se sobressaiu em relação a BVC (9,10 mg/g) e BVM (6,83 mg/g) que, por sua vez, não foram significativamente diferentes. BF (59,55 mg/g) foi a amostra que se destacou no período seco, quando comparada a BVM (16,05 mg/g) e BVC (11,40 mg/g), que não apresentaram diferença estatística.

Quando observado apenas o somatório das médias das fitofisionomias, tanto nas áreas de floresta, como nas de savana, verifica-se as maiores concentrações no período seco, totalizando 38,11 e 87,00 mg/g, respectivamente.

Avaliando a composição fenólica em extratos metanólicos de própolis coletadas em diferentes locais e estações do Algarve – Portugal, Miguel et al. (2014) observaram as maiores concentrações nas amostras coletadas no inverno ($p < 0,05$), ao contrário dos resultados obtidos no presente estudo, onde nas fitofisionomias estudadas, as maiores concentrações de fenólicos foram observadas no período seco, e não no chuvoso.

Por outro lado, pesquisas com própolis no Brasil corroboram com os resultados encontrados no presente estudo para quantificação de fenólicos, onde independente da fitofisionomia, os maiores teores foram observados no período seco (total de 38,11 mg/g em floresta e 87,00 mg/g em savana). Castro et al (2007) analisando extratos de própolis do tipo 12 (Brumadinho – MG), verificaram os teores mais elevados de compostos fenólicos durante os meses de agosto e setembro (81,70 e 94,98 mg/g), que na região correspondem ao período seco.

Os resultados supracitados indicam que, o maior teor de fenólicos se deve, provavelmente, a maior produção destes metabólitos pelas plantas onde a resina é coletada pelas abelhas nos meses em que estão sob algum tipo de estresse (SIMÕES-AMBROSIO et al., 2010). No caso dos resultados obtidos para Roraima, um estresse hídrico.

Com relação à legislação brasileira que trata da fixação de identidade e qualidade de própolis, através da Normativa nº3 (BRASIL, 2001), o limite mínimo para o teor de fenólicos é de 5%. Baseando-se nesse instrumento, os valores obtidos no presente estudo foram convertidos em porcentagem e comparados com os estabelecidos no anexo VI da supracitada Normativa, conforme pode-se observar no quadro 8.

Quadro 8 - Teor de fenólicos (%) das amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso, em duas fitofisionomias

AMOSTRA	(%)*	
	CHUVOSO	SECO
MJ	0,16	0,64
CR	1,14	2,20
BVA	1,21	0,97
BF	4,09	5,95
BVC	0,91	1,14
BVM	0,68	1,60

Legenda: * = Porcentagem considerando a massa inicial. MJ a BVA área de floresta; BF a BVM área de savana. MJ= Mucajaí/Tamandaré; CR= Caracaraí/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

De acordo com os dados observados no quadro 8, em ambos os períodos climáticos e fitofisionomias, apenas a amostra BF (5,95%) no período seco apresentou-se acima do limite mínimo estabelecido pela legislação quanto ao teor de fenólicos em própolis. Nascimento et al. (2007) estudando diferentes amostras de própolis de Minas Gerais extraídas com etanol a 95%, obtiveram teores de fenólicos entre 2,9 à 15,1%. Melo, Matsuda e Almeida-Muradian (2012) avaliaram própolis extraídas com etanol a 80% de diferentes cidades de quatro regiões do Brasil, e verificaram teores de fenólicos variando entre 0,95 e 29,52%. Por sua vez, Silva et al. (2006) ao analisarem amostras de própolis da Paraíba, colhida em diferentes épocas do ano e extraídas em aparelho tipo *soxhlet* com álcool de cereal, encontraram teores de fenóis entre 2,93 e 8,13%.

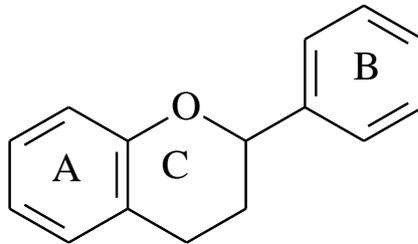
Os teores de fenólicos verificados no presente trabalho, levando em consideração os dois períodos climáticos e as diferentes fitofisionomias variaram bem menos que os resultados acima citados (0,16 à 5,95%), embora apenas uma das amostras tenha apresentado teor acima dos 5% exigidos pela normativa. De maneira geral pode-se observar, que os fenólicos das amostras de própolis supracitados podem sofrer variações de acordo com o período e com a área de coleta.

4.4.2 Teor de flavonoides

Os flavonoides são compostos bioativos do grupo dos polifenóis encontrados no reino vegetal. Sua estrutura química consiste de 15 carbonos organizados em dois

anéis aromáticos, ligados por uma cadeia de três carbonos (FERREIRA; OLIVEIRA; SANTOS, 2008), conforme observa-se na figura 19.

Figura 19 - Estrutura básica dos flavonoides



4.4.2.1 Flavonas e flavonóis

Os compostos flavonas e flavonóis (Figuras 20 e 21) fazem parte do grupo de flavonoides. São encontrados em diversas espécies vegetais e agem na proteção das células contra o excesso de radiação UV nos comprimentos de onda mais curtos, 280-320 nm (FERREIRA; OLIVEIRA; SANTOS, 2008).

Figura 20 - Estrutura básica das flavonas

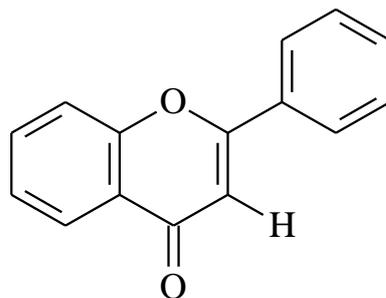
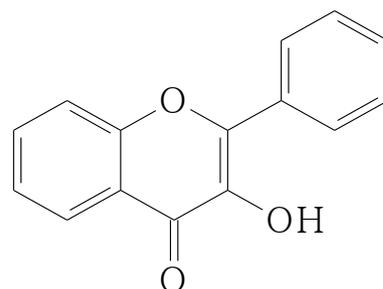


Figura 21 - Estrutura básica dos flavonóis



O teor de flavonas e flavonóis foi determinado pelo método espectrofotométrico usando cloreto de alumínio - $AlCl_3$. No quadro 9, observa-se diferenças estatísticas significantes ($p \leq 0,05$) para algumas amostras quando avaliou-se a interação amostras de própolis x períodos climáticos nos períodos e fitofisionomias estudados.

Quadro 9 - Valores médios de flavonas e flavonóis (mg de quercetina/g de própolis) nas amostras de própolis dos períodos seco e chuvoso em diferentes fitofisionomias

AMOSTRA	FLORESTA	
	Chuvoso	Seco
MJ	0,63 Ba	0,37 Ca
CR	1,51 Ab	5,02 Aa
BVA	0,59 Ba	0,80 Ba
SAVANA		
BF	3,41 Aa	1,48 Bb
BVC	0,60 Ba	0,25 Ca
BVM	0,79 Bb	3,71 Aa

Legenda: Letras minúsculas diferentes na mesma linha (período climático) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (locais) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. MJ= Mucajaí/Tamandaré; CR= Caracarái/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Dentre as amostras das áreas de floresta no período chuvoso, não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre MJ (0,63 mg/g) e BVA (0,59 mg/g), apenas para CR (1,51 mg/g). No período seco, todas as amostras foram estatisticamente significativas, no entanto CR (5,02 mg/g) foi a que apresentou valor mais elevado. Entre os períodos climáticos, apenas a CR (1,51 e 5,02 mg/g) apresentou diferença estatística.

Nas áreas de savana durante o período chuvoso, BF (3,41 mg/g) foi a única amostra que se diferenciou estatisticamente ($p \leq 0,05$) das demais. No período seco, todas as amostras apresentaram diferença estatística, com o destaque para BVM (3,71 mg/g). Quando se observa as amostras dos períodos seco e chuvoso, apenas BVC (0,60 e 0,25 mg/g) não apresentou diferença estatística à 5% de probabilidade.

Em relação ao somatório das médias das fitofisionomias, verifica-se que tanto a área de floresta, quanto a de savana apresentaram as maiores concentrações de flavonas e flavonóis no período seco, totalizando 6,19 e 5,44 mg/g, respectivamente.

Lacerda (2012) estudando sobre o teor de flavonoides em amostras de própolis em função das estações do ano e em diferentes localidades dos estados do Paraná e

Santa Catarina pertencentes ao bioma Mata Atlântica, constatou que os teores de flavonoides variaram de 0,26 à 0,76 mg/g na primavera, de 0,0 à 0,92 mg/g no outono e de 0,0 à 2,31 mg/g no verão. Os resultados encontrados neste estudo no período seco em ambas as fitofisionomias (0,25 à 5,02 mg/g) estão dentro da faixa de valores encontrados no mesmo período (verão) pelo autor supracitado. O teor máximo de flavonas e flavonóis observado por Lacerda nas amostras do verão foi inferior ao encontrado nesta pesquisa, e além disso, os teores variaram a partir de zero (0,0 mg/g) para duas estações, enquanto neste trabalho nenhuma das amostras exibiu ausência desses compostos, demonstrando que apesar de baixos teores eles estão presentes.

Melo, Matsuda e Almeida-Muradian (2012) analisaram os teores de flavonas e flavonóis em amostras de própolis de diferentes cidades de quatro regiões do Brasil, com características vegetativas diferentes, objetivando comparar os resultados obtidos aos padrões estabelecidos na legislação brasileira. Foram determinados para o sudeste teores de 43,66 mg/g, para o nordeste (14,64 mg/g), no sul (21,74 mg/g) e no centro-oeste (20,41 mg/g), no entanto, apesar da dispersão dos dados, foram estatisticamente semelhantes. No presente trabalho, embora as amostras não tenham exibido valores tão altos quanto os apresentados pelos autores supracitados, as médias, em sua maioria, foram diferentes estatisticamente.

Alves e Kubota (2013) objetivando determinar algumas características em extratos etanólicos de própolis comercializados em Santa Maria - RS, verificaram que o teor de flavonas e flavonóis variou de 48,95 à 110,61 mg/g. Nascimento et al. (2007) estudando diferentes amostras de própolis provenientes de regiões do estado de Minas Gerais constataram, que houve uma variação de flavonas e flavonóis um pouco menor (5,0 à 31,3 mg/g), do que os relatados por Alves e Kuboka. Logo, ambos os resultados acima citados foram superiores aos verificados no presente estudo.

Os teores de flavonoides (subclasse flavonas e flavonóis) encontrados nas amostras deste estudo foram convertidos em porcentagem e comparados aos valores estabelecidos no anexo VI do Regulamento Técnico para a fixação de identidade e qualidade de própolis (Quadro 10), que classifica as própolis e seus extratos quanto ao teor de flavonoides como: teor mínimo, 0,5%; baixo teor, até 1,0% (m/m); médio teor, >1,0 e 2,0% (m/m); e alto teor, acima de 2,0% (m/m) (BRASIL, 2001).

Quadro 10 - Teor de flavonas e flavonóis das amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em duas fitofisionomias

AMOSTRA	(%)*	
	CHUVOSO	SECO
MJ	0,06	0,04
CR	0,15	0,5
BVA	0,06	0,08
BF	0,34	0,15
BVC	0,06	0,03
BVM	0,08	0,4

Legenda: * = Porcentagem considerando a massa inicial. MJ a BVA área de floresta; BF a BVM área de savana. MJ= Mucajaí/Tamandaré; CR= Caracaraí/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Como pode ser observado, nenhuma das amostras apresentaram teores médios ou altos de flavonoides em ambos os períodos climáticos e fitofisionomias, e apenas a amostra da área de floresta, CR (0,5%), no período seco encaixa-se no limite mínimo estabelecido na legislação.

SOUZA et al. (2010) ao avaliar o efeito da sazonalidade sobre algumas características físico-químicas de extratos alcoólicos da própolis, encontraram baixos teores de flavonoides para própolis coletadas na primavera, verão e inverno (0,4 a 0,5 %). Esses resultados corroboram com os obtidos neste trabalho, onde todos os teores referentes ao período chuvoso e seco, apresentaram-se baixos (0,04 à 0,5%).

Nesse mesmo sentido, Melo, Matsuda e Almeida-Muradian (2012) analisaram amostras de própolis de diferentes cidades de quatro regiões do Brasil e verificaram que quatro teores de flavonoides referentes às amostras de quatro localidades distintas apresentaram-se abaixo do limite mínimo de 0,5% estabelecido pela legislação. Este fato só não ocorreu com uma das amostras analisadas nesta pesquisa, como já relatado acima.

Embora a própolis que analisamos e as dos autores supracitados tenha sido elaborada pela abelha *Apis mellifera*, as variações referentes às concentrações de flavonas e flavonóis era esperada, visto que esta pode ocorrer em função de diferentes fatores, como por exemplo, pelo período da coleta da resina (SANTOS et al., 2003) ou pela flora local e região da coleta (SOUSA et al., 2007).

4.4.2.2 Flavanonas e diidroflavonois

Flavanonas e diidroflavonois (Figuras 22 e 23) são metabólitos secundários da classe dos flavonoides, encontrados em diversas espécies vegetais. Para sua quantificação foi utilizado o método espectrofotométrico com o reagente 2,4-dinitrofenilidrazina (TYLKOWSKI et al., 2010).

Figura 22 - Estrutura básica das flavanonas

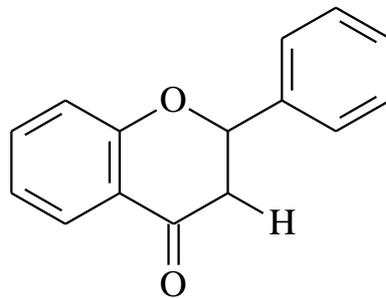
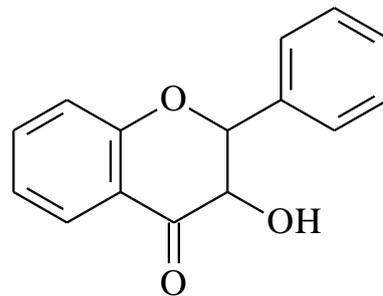


Figura 23 - Estrutura básica dos diidroflavonois



De acordo com os dados observados no quadro 11, a interação amostras de própolis x períodos climáticos nas áreas de floresta e savana e em ambos os períodos apresentaram diferenças estatísticas significantes ($p \leq 0,05$).

Quadro 11 - Valores médios de flavanonas e diidroflavonois (mg de pinocembrina/g de própolis) em amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em diferentes fitofisionomias

AMOSTRA	FLORESTA	
	Chuvoso	Seco
MJ	1,50 Aa	1,93 Ba
CR	1,43 Ab	4,91 Aa
BVA	1,11 Aa	1,54 Ba
SAVANA		
BF	4,75 Aa	2,09 Bb
BVC	1,46 Ba	1,56 Ca
BVM	1,32 Bb	5,28 Aa

Legenda: Letras minúsculas diferentes na mesma linha (período climático) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (locais) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. MJ= Mucajaí/Tamandaré; CR= Caracarái/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Entre as amostras nas áreas de floresta, não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) no período chuvoso. Já no período seco, CR (4,91 mg/g) apresentou maior significância frente as amostras MJ (1,93 mg/g) e BVA (1,54 mg/g), que não apresentaram diferença estatística entre si. Analisando as amostras entre os períodos climáticos, nota-se que apenas CR (1,43 e 4,91 mg/g) se diferenciou significativamente.

Nas áreas de savana, as amostras BVM (1,32 mg/g) e BVC (1,46 mg/g) no período chuvoso não apresentaram diferença estatística ($p \leq 0,05$), com exceção da amostra BF (4,75 mg/g). No período seco, no entanto, todas as amostras mostraram-se estatisticamente significativas, sendo que em BVM (5,28 mg/g) ocorreu a maior entre elas. Analisando os teores de flavanonas e diidroflavonois entre os períodos, apenas BVC (1,46 e 1,56 mg/g) não apresentou diferença estatística.

Considerando-se apenas o somatório das médias das fitofisionomias, verifica-se que as maiores concentrações de flavonas e flavonóis são referentes ao período seco, totalizando 8,38 e 8,93 mg/g nas áreas de floresta e savana, respectivamente. Trusheva, Trunkova e Bankova (2007) ao analisarem a própolis de Bolonha – Itália, através de diferentes métodos de extração de componentes biologicamente ativos. Utilizando as amostras de própolis maceradas tradicionalmente, verificaram teores entre 18 e 19% de flavanonas e diidroflavonois.

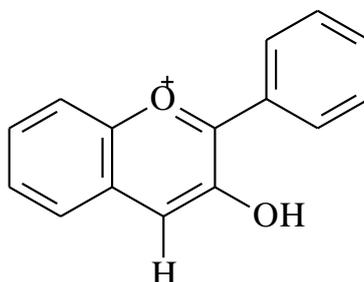
Marghitas et al. (2007), também avaliaram a quantidade total de flavonoides totais por diferentes métodos em 14 amostras de própolis da Romênia. E o teor de flavanonas e diidroflavonois observados nas amostras maceradas variaram de 4,84 à 7,54%.

Como se pode observar, os teores da sub classe de flavonoides encontrados pelos autores supracitados foram superiores aos verificados nas amostras de própolis roraimense: 0,11 à 0,53%. De acordo com Marghitas et al. (2007), apesar das própolis apresentarem atividades biológicas semelhantes, elas não são iguais devido a origem fitogeográfica da resina coletada pelas abelhas para produção desta matéria. Esse é um dos motivos pelos quais os resultados encontrados na literatura para alguns compostos, como os flavonóides, diferem tanto uns dos outros.

4.4.2.3 Antocianinas

Antocianinas são pigmentos naturais pertencentes ao grupo dos flavonoides, amplamente distribuídos no reino vegetal. São caracterizadas pelo núcleo básico flavílio (cátion 2-fenilbenzopirílio) que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensados por um oxigênio (CASTANEDA et al., 2009), conforme pode ser observado na figura 24.

Figura 24 - Estrutura básica das antocianinas



Para a determinação do teor de antocianinas foi utilizada a metodologia descrita por Araújo et al. (2007). É importante comentar que não foi possível realizar a análise em questão com as amostras MJ (Mucajaí/Tamandaré, área de floresta) e BF (Bonfim/Confiança, área de savana) devido à baixa produção de própolis nessas

localidades. Os valores relacionados à interação amostras de própolis x períodos climáticos podem ser observado no quadro 12.

Quadro 12 - Valores médios de antocianinas (mg/100 g) em amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em diferentes fitofisionomias

AMOSTRA	FLORESTA	
	Chuvoso	Seco
CR	5,060 Bb	84,513 Aa
BVA	13,223 Aa	7,116 Bb
SAVANA		
BVC	29,520 Ba	25,436 Bb
BVM	33,600 Aa	31,543 Ab

Legenda: Letras minúsculas diferentes na mesma linha (período climático) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (locais) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. CR= Caracará/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Em relação às amostras das áreas de floresta, todas foram significativas estatisticamente ($p \leq 0,05$) em ambos os períodos; BVA (13,223 mg/100 g) se destacou no chuvoso e CR (84,513 mg/100 g) no período seco.

Nas áreas de savana, assim como nas de floresta, todas as amostras foram significativas à 5%. Tanto no período chuvoso quanto no seco, BVM (33,600 e 31,543 mg/100 g) se sobressaiu quanto à BVC (29,520 e 25,436 mg/100 g). Em relação as amostras dentro dos períodos, BVC (29,520 mg/100 g) e BVM (33,600 mg/100 g) foram maiores significativamente no chuvoso.

Considerando-se o somatório das médias das amostras nas diferentes fitofisionomias percebe-se, que nas áreas de floresta o teor total de antocianinas foi maior no período seco (91,63 mg/g), enquanto que nas de savana o destaque ficou para as amostras coletadas no período chuvoso (63,12 mg/g).

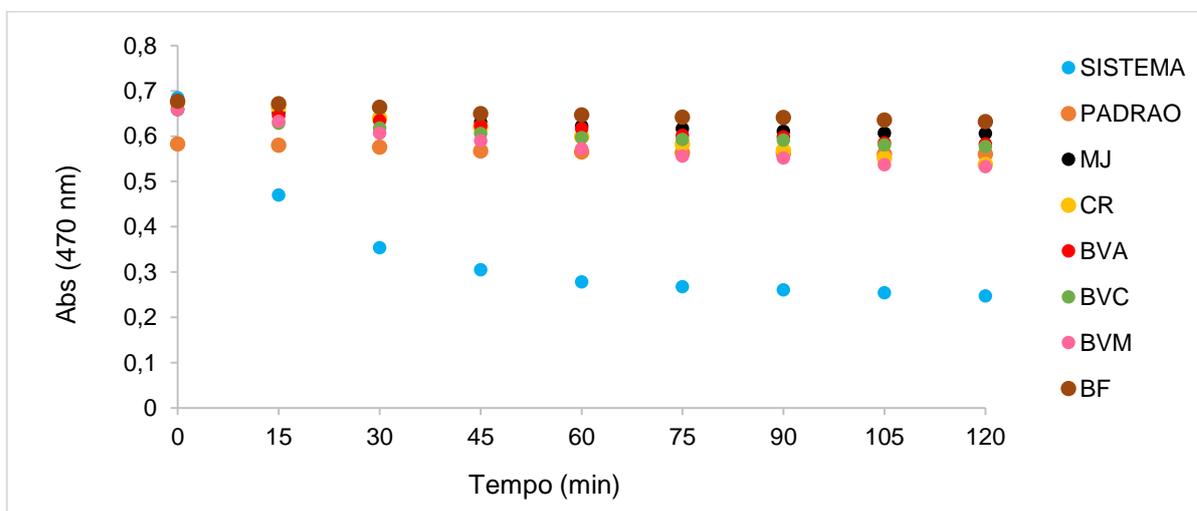
Pesquisas referentes à quantificação de antocianinas em própolis não são comuns na literatura. No entanto, Oliveira et al. (2012) fizeram estudos com extratos de própolis de três marcas, comercializadas no município de Barra do Garças – MT utilizando na identificação soluções aquosas de HCl e NaOH. Os autores supracitados analisaram a presença ou ausência de flavonoides e observaram uma reação negativa para as antocianinas, sugerindo ausência desses constituintes nas amostras, provavelmente, devido as fontes vegetais visitadas pelas abelhas não apresentarem concentrações satisfatórias desta substância.

No presente estudo, para quantificar antocianinas, utilizou-se uma solução extratora ácida, etanol / HCl 1,5 N (85:15 v/v), e estes constituintes não apenas estavam presentes nas amostras, mas apresentaram-se em elevadas concentrações em ambas fitofisionomias e períodos climáticos, sugerindo que a técnica utilizada foi mais adequada para a quantificação.

4.4.3 Atividade antioxidante pela oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

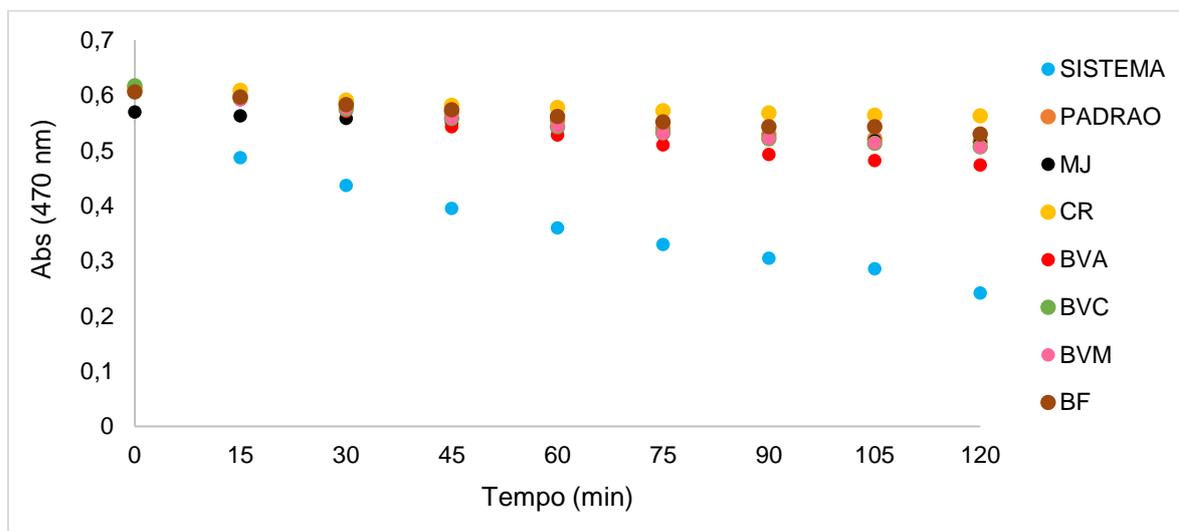
A capacidade das soluções etanólicas dos extratos de própolis em prevenir a oxidação do β -caroteno foi avaliada de acordo com metodologia descrita por Emmons, Peterson e Paul (1999), com algumas adaptações (ROCKENBACH et al., 2008). As soluções das amostras analisadas, de acordo cinética da reação, apresentam boa capacidade de prevenir a oxidação do β -caroteno (Figuras 25 e 26).

Figura 25 - Cinética da reação do sistema β -caroteno/ácido linoleico com as amostras de própolis do período chuvoso nas áreas de savana e floresta de Roraima



Legenda: Abs= absorbância; min= minutos. MJ a BVA área de floresta; BVC a BF área de savana. MJ= Mucajai/Tamandaré; CR= Caracarái/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Figura 26 - Cinética da reação do sistema β -caroteno/ácido linoleico com as amostras de própolis do período seco nas áreas de savana e floresta de Roraima



Legenda: Abs= absorbância; min= minutos. MJ a BVA área de floresta; BVC a BF área de savana. MJ= Mucajaí/Tamandaré; CR= Caracarái/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Observa-se que, em ambos os períodos climáticos, as amostras provenientes das áreas de floresta (BVA, MJ, CR) e savana (BVC, BVM, BF) exibiram elevado potencial de inibição da oxidação do β -caroteno, quando comparado ao padrão. E na ausência de antioxidantes, a degradação desse composto fica evidente com o decaimento da absorbância, no decorrer do tempo. Esse fato pode ser melhor analisado quando observados os valores expressos em porcentagem no quadro 13.

Analisando a interação amostras de própolis x períodos climáticos da análise de variância (Quadro 13), nota-se que as amostras da área de floresta quando relacionadas aos períodos climáticos foram significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) para CR com destaque no período chuvoso (89,56%), e BVA (87,06%) no período seco. A amostra MJ não apresentou diferença estatística entre os períodos. Na savana, todas as amostras foram estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$), sendo que apenas BVM (75,52%) se sobressaiu durante o período chuvoso.

Em relação às fitofisionomias, as amostras da área de floresta foram todas significativas ($p \leq 0,05$) no período chuvoso, sendo MJ (86,75%) intermediária entre CR e BVA. No período seco, apenas CR (67,86%) apresentou diferença estatística, mesmo apresentando valor inferior às demais amostras do período. Nas áreas de savana, BF foi a única amostra diferente significativamente no período chuvoso. Já no

período seco, todas apresentaram diferença à 5%, mas o destaque foi para BF (93,29%).

É importante levar em consideração que, as amostras CR (floresta) e BVM (savana) referentes ao período seco, apesar de terem se apresentado significativamente inferiores às demais amostras dentro de suas respectivas fitofisionomias, foram as únicas com concentração (0,08 mg/mL) inferior as outras amostras (0,4 mg/mL), conforme descrito no item 3.3.4. Considerado esse fato, as referidas amostras acabam exibindo maior potencial antioxidante em relação às demais.

Quadro 13 - Valores de atividade antioxidante (%) pela oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico em amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em duas fitofisionomias

FITOFISIONOMIA	AMOSTRA	PERÍODO CLIMÁTICO	
		Chuvoso	Seco
Floresta	MJ	86,750 ABa	85,880 Aa
	CR	89,560 Aa	67,860 Bb
	BVA	80,223 Bb	87,060 Aa
Savana	BF	84,983 Ab	93,290 Aa
	BVC	76,223 Bb	88,240 Ba
	BVM	75,523 Ba	69,640 Cb

Legenda: Letras minúsculas diferentes na mesma linha (período climático) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (locais) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. MJ= Mucajaí/Tamandaré; CR= Caracaraí/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Estudando própolis vermelha produzida por abelhas *Apis mellifera* no estado de Alagoas, Cabral et al. (2009) observaram que, a atividade antioxidante do extrato etanólico pelo método da inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico apresentou elevada ação antioxidante (61,26%) não se diferenciando significativamente da fração clorofórmica (64,84%). No entanto, esses percentuais são inferiores quando comparados aos verificados para quaisquer uma das amostras de própolis roraimenses evidenciando menor potencial que estas.

Por outro lado, De Melo et al. (2014), também realizaram estudos para avaliar a capacidade antioxidante de amostras de própolis em quatro regiões brasileiras (nordeste, sudeste, sul e centro-oeste), com suas respectivas fitofisionomias e climas, utilizando o método de oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico. As própolis das quatro regiões não apresentaram níveis iguais de atividade antioxidante ($p < 0,001$): as amostras referentes a região sudeste (83,67% – 90,55%) apresentaram-se superiores às das regiões sul (65,92% - 88,55%) e centro-oeste (76,24% - 86,52%) e, as amostras das regiões nordeste (51,33% - 92,70%) e sudeste apresentaram maior e menor variabilidade nos níveis de capacidade antioxidante, respectivamente. Ikegaki (2001), avaliando a capacidade antioxidante de amostras de própolis da região sul do Brasil também encontrou valores com grande variação entre as amostras coletadas em diferentes localidades (65,50% e 95,10%).

Os resultados de De Melo et al. (2014) e Ikegaki (2001) corroboram com os encontrados neste estudo, pois as amostras coletadas em Roraima nas diferentes fitofisionomias também apresentaram uma faixa de variação ampla (67,86% - 93,29%). Isso pode ser explicado pela influência fitogeográfica e climática dos locais de coleta sobre as características das própolis. A diversidade vegetal dos locais está à disposição das abelhas para a coleta, o que resulta na ocorrência de variados tipos de própolis, com consequentes diferenças em suas composições químicas (BARTH et al., 2013; PARK et al., 2002).

4.4.4 Atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH

A capacidade antioxidante foi determinada através da redução do radical livre DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazila) pelos antioxidantes presentes nas amostras e quantificada a partir da curva de calibração, utilizando o trolox como padrão de antioxidante. Como pode-se observar no quadro 14, na interação amostras de própolis x períodos climáticos há diferenças significativas ($p \leq 0,05$) para algumas das amostras analisadas, em relação ao potencial antioxidante em ambos os períodos e fitofisionomias.

Quadro 14 - Valores de atividade antioxidante ($\mu\text{mol TE/g}$ de própolis) pelo sequestro do radical livre DPPH em amostras de própolis coletadas nos períodos seco e chuvoso em duas fitofisionomias

AMOSTRA	FLORESTA	
	Chuvoso	Seco
MJ	31,54 Ca	27,01 Ca
CR	337,65 Ab	386,82 Aa
BVA	101,01 Bb	189,74 Ba
SAVANA		
BF	85,89 Ab	471,43 Aa
BVC	26,64 Aa	24,67 Ca
BVM	31,47 Ab	162,57 Ba

Legenda: TE= Trolox Equivalente. Letras minúsculas diferentes na mesma linha (período climático) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (locais) mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias. MJ= Mucajaí/Tamandaré; CR= Caracarái/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Analisando os dois períodos climáticos, o potencial antioxidante para todas as amostras de própolis na área de floresta, apresentou-se diferente estatisticamente ($p \leq 0,05$), sendo CR (337,65 e 386,82 mg/g) o de maior significância em ambos os períodos. As amostras CR (386,82 $\mu\text{mol TE/g}$) e BVA (189,74 $\mu\text{mol TE/g}$) exibiram maior ação antioxidante durante a seca, ao contrário de MJ (31,54 e 27,01 mg/g) que não diferiu entre os períodos.

Na área de savana, considerando as amostras dentro de cada período climático, observa-se que não houve diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre estas no período chuvoso. No período seco, BF (471,43 $\mu\text{mol TE/g}$) apresentou potencial antioxidante significativamente maior, seguido por BVM (162,57 $\mu\text{mol TE/g}$) e BVC (24,67 $\mu\text{mol TE/g}$).

De maneira geral, considerando-se o somatório das médias das fitofisionomias, as amostras referentes ao período seco apresentaram maior atividade antioxidante, 603,57 $\mu\text{mol TE/g}$ (floresta) e 658,67 $\mu\text{mol TE/g}$ (savana), em comparação as observadas no período chuvoso: 470,20 $\mu\text{mol TE/g}$ (floresta) e 144,00 $\mu\text{mol TE/g}$ (savana).

Em estudo sobre a atividade antioxidante de própolis produzidas em diferentes estações do ano e em localidades no bioma (Mata Atlântica), nos estados do Paraná e Santa Catarina, Lacerda (2012) constatou que utilizando o método de sequestro do radical livre DPPH, existiam diferenças estatisticamente significativas entre a

primavera (18,40 a 53,22 $\mu\text{mol trolox/g}$), verão (4,5 a 50,30 $\mu\text{mol trolox/g}$) e outono (5,1 a 84,30 $\mu\text{mol trolox/g}$), sendo que esta última apresentou maior heterogeneidade de atividade.

Os resultados acima explanados diferem dos encontrados no presente estudo, visto que o potencial antioxidante das amostras referentes ao verão foram os menores dentre as estações analisadas, e as relacionadas ao período seco no estado de Roraima, tanto nas áreas de floresta quanto de savana foram as que apresentaram as melhores atividades. Isso apenas deixa mais evidente que não apenas o clima, mas a vegetação ao redor dos apiários influenciam na composição da própolis produzida pelas abelhas.

Oldini et al. (2015) estudando o potencial antioxidante de própolis produzidas por *Apis mellifera* na cidade de Dois Vizinhos, no Paraná, verificaram atividade nos extratos etanólicos variando de 0,000126 a 0,000350 $\mu\text{mol trolox/g}$. E estudos com própolis em outros países também evidenciaram variações de potencial antioxidante entre as amostras. Mihai et al. (2011) analisando a atividade antioxidante em própolis coletadas em diferentes localidades da Transilvânia – Romênia, observaram que, mesmo baixas, houve grande variação de potencial antioxidante entre as amostras (0,00029 a 0,00123 $\mu\text{mol trolox/g}$).

De acordo com o exposto acima, os resultados exibidos para a própolis roraimense são bastante superiores, quando comparados aos encontrados por Lacerda (2012), Mihai et al. (2011) e Oldini et al. (2015). Essa notável diferença, segundo os autores supracitados é devida, provavelmente, não apenas às regiões geográficas, mas também à composição química das plantas de onde as abelhas coletaram as resinas, presumindo assim que a vegetação dos locais de coleta em Roraima apresentam uma variação de plantas com notável atividade antioxidante.

4.5 CORRELAÇÃO DAS ANÁLISES ENTRE FENÓLICOS, FLAVONOIDES TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Estudos com própolis tem demonstrado a existência de correlação entre atividade antioxidante e alguns componentes bioativos presentes nesse produto apícola. Logo, relacionou-se os compostos quantificados neste trabalho com a capacidade antioxidante obtida por diferentes métodos, e verificou-se que os valores

para DPPH e β -caroteno/ácido linoleico indicam que, a capacidade em sequestrar radicais livres e/ou inibir a oxidação pela transferência de átomos de hidrogênio é reduzida na mesma proporção em que as concentrações de fenólicos e flavonoides totais diminuem nas amostras de própolis. Portanto, a contribuição dessas classes com a capacidade antioxidante das própolis estudadas foi avaliada pela correlação de Pearson, e os resultados estão apresentados no quadro 15.

Quadro 15 - Coeficientes de correlação de Pearson (r^2) de fenólicos e flavonoides totais com a capacidade antioxidante dada pelos métodos de DPPH e β -caroteno/ácido linoleico nas amostras de própolis coletadas em diferentes períodos climáticos e fitofisionomias

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO (r^2)								
Variáveis em correlação								
AMOSTRAS	FE x DPPH		FT X DPPH		FE X AA- β		FT X AA- β	
	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca
MJ	0,9669	0,9695	0,8171	0,8244	0,9959	0,4839	0,5682	0,9920
BVA	0,9146	0,9739	0,9784	0,6413	0,8783	0,9993	0,9581	0,8203
CR	0,8386	0,9835	0,9087	0,9075	0,6546	0,9979	0,7573	0,8518
BVC	0,8422	0,9966	0,9621	0,9983	0,9487	0,9223	0,8483	0,9130
BVM	0,7998	0,8993	0,7894	0,6374	0,6546	0,9786	0,6417	0,9760
BF	0,8442	0,9961	0,9701	0,9992	0,7505	0,9834	0,9205	0,9910

Legenda: FE= fenólicos; FT= flavonoides totais; AA-DPPH= atividade antioxidante por DPPH; AA- β = atividade antioxidante por β -caroteno/ácido linoleico. MJ a CR= área de floresta; BVC a BF= área de savana. MJ= Mucajaí/Tamandaré; CR= Caracarái/Novo Paraíso; BVA= Boa Vista/Alvorada; BF= Bonfim/Confiança; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia.

Pode-se observar que, todas as correlações avaliadas enquadraram-se como positivas ($r = 0$ até $1,0$), no entanto, existem subdivisões a respeito dessa positividade. Nesse caso, a maioria das correlações apresentou-se fortemente positiva ($r^2 = 0,8$ a $1,0$); parte figura-se como moderadamente positiva ($r^2 = 0,5$ a $0,8$); e apenas a correlação entre fenólicos e atividade antioxidante por β -caroteno/ácido linoleico da amostra MJ (área de floresta) no período seco se apresenta como fraca positiva ($r^2 = 0,1$ a $0,5$), segundo a classificação de Figueiredo Filho e Júnior (2009). No entanto, estudos publicados sobre própolis acerca dos teores de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante têm mostrado resultados afirmando que, há correlação positiva entre eles (CABRAL et al., 2009; COTTICA et al., 2011; SILVA et al., 2006; MIGUEL et al., 2014).

Cabral et al. (2009) avaliaram a composição fenólica e antioxidante da própolis vermelha brasileira. Os mesmos expressaram resultados que afirmam a presença de correlação positiva de fraca a moderada ($r^2= 0,23$) entre fenólicos e atividade sequestradora do radical livre DPPH, e forte positiva ($r^2= 0,86$) entre fenólicos e a atividade antioxidante pela oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico. As amostras de própolis analisadas neste trabalho também apresentaram correlação positiva, no entanto foram bem melhores do que os resultados expostos pelos autores supracitados; a correlação variou de moderada à forte, em ambos os períodos climáticos, para a variável fenólicos x DPPH.

Cottica et al. (2011) analisando extratos de própolis obtidos a partir de diferentes técnicas de extração observaram que, a atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH está fortemente correlacionada aos compostos fenólicos e flavonoides. Assim também como Miguel et al. (2014), que em seus estudos com própolis coletadas em várias áreas do Algarve - Portugal, verificaram forte correlação entre fenólicos e flavonoides, com a atividade sequestradora do radical livre DPPH.

Corroborando com os resultados expostos pelos autores supracitados, pode-se inferir que, as concentrações de fenólicos e flavonoides totais, mesmo em escalas positivamente diferentes, estão diretamente relacionadas à capacidade antioxidante das amostras de própolis roraimenses analisadas neste trabalho.

5 CONCLUSÕES

A produção de própolis em geral foi baixa, porém maior em áreas de floresta, quando comparada às áreas de savana, tanto no período seco, quanto no chuvoso.

A coloração dos extratos etanólicos variou de amarelo, passando por tons de castanho, marrom e vermelho.

O teor de fenólicos, flavonas e flavonóis (flavonoides) para a maioria das amostras foi inferior ao mínimo estabelecido pela legislação brasileira. De acordo com esta normativa, apenas uma amostra de savana e uma de floresta, ambas do período seco, apresentaram teores de fenólicos, flavonas e flavonóis dentro da legislação.

O teor de flavanonas e diidroflavonóis foi baixo, com exceção de uma amostra de savana e de floresta, ambas no período seco.

Os teores de antocianinas foram muito superiores às demais classes de flavonoides, principalmente para uma amostra de floresta no período seco. É importante ressaltar que em própolis, os dados para a classe em questão não são comuns na literatura. Esses são resultados inéditos.

A atividade antioxidante por ambos os métodos foi significativa, apresentando valores muito elevados quando comparados com dados da literatura.

A correlação entre as atividades antioxidantes e os teores de fenólicos e flavonoides foi de moderada a forte, demonstrando que estas classes tiveram influência sobre as atividades determinadas.

Os resultados aqui expostos, utilizando as abordagens de sazonalidade e fitofisionomias de floresta e savana são pioneiros em Roraima, contribuindo assim para futuras pesquisas com própolis no estado.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, P. G. L. et al. β -caroteno, ácido ascórbico e antocianinas totais em polpa de frutos de aceroleira conservada por congelamento durante 12 meses. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 104-107, jan./mar., 2007.

ARANTES, J. T. **Estudo comprova atividades antioxidante e antimicrobiana da própolis orgânica brasileira.** Disponível em: http://agencia.fapesp.br/estudo_comprova_atividades_antioxidante_e_antimicrobiana_da_propolis_organica_brasileira/19388. Acesso em: 26 nov. 2014.

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

ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [S.l.], v. 34, n. 1, p. 37-41, 2013.

BARTH, O. M. et al. Botanical origin and Artepillin-C content of Brazilian propolis samples. **Grana**, [S.l.], v. 52, n. 2, p. 129-135, 2013.

BANKOVA, V. et al. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. **Apidologie**, [S.l.], v. 29, s./n., p. 361-367, 1998.

BANKOVA, V. S.; CASTRO, S.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, [S.l.], v. 31, s./n., p. 3-15, 2000.

BORGES, L. L. et al. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 12, p. 1-20, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Própolis. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, p.18-23, 23 jan. 2001.

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

BRIGHENTI, D. M.; SANTOS, F. C.; BRIGHENTI, C. R. G. Método para intensificar a produção de própolis: o quadro coletor "tira e põe". **Apacame**, [S.l.], v. 85, s./n., s./p., 2006.

CABRAL, I. S. R. et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, [S.l.], v. 32, n. 6, p. 1523-1527, 2009.

CASTRO, M. L. et al. Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. **Química Nova**, [S.l.], v. 30, n. 7, p. 1512-1516, 2007.

CASTANEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 113, s./n., p. 859-871, 2009.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFSC, 2007. p. 519-536.

COTTICA, M. S. et al. Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. **Journal of the brazilian chemical society**, [S.l.], v. 22, n. 5, 929-935, 2011.

CHANG, C.C.; YANG, M.H.; WEN, H.M.; CHERN, J.C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 10, n. 3, p. 178-183, 2002.

DAUGSCH, A. et al. Própolis Vermelha e sua origem botânica. **Apacame**, Campinas - SP, v. 89, s./n., 2006.

DAUGSCH, A. et al. Brazilian Red Propolis - Chemical Composition and Botanical Origin. **Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine**, Brazil, v. 5, n. 4, p. 435-441, 2008.

DE MELO, A. A. M. et al. Capacidade antioxidante da própolis. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, [S.l.], v. 44, n. 3, p. 341-348, 2014.

DOWD, L. E. Spectrophotometric Determination of Quercetin. **Analytical Chemistry**, [S.l.], v. 31, s./n., p. 1184-1187, 1959.

EMMONS, C.; PETERSON, D. M.; PAUL, G. L. Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa* L.) extracts. 2. *In vitro* antioxidant activity and contents of phenolic and tocol antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, California - EUA, v. 47, n. 12, p. 4894-4898, 1999.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras - MG, v. 6, s./n., p. 36-41, 2008.

FIGUEIREDO FILHO, D. B. F.; JUNIOR, J. A. S. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, [S.l.], v. 18, n. 1, p. 115-146, 2009.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 171-178, 2006.

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **The Journal of Biological Chemistry**, [S.l.], v. 73, s./n., p. 627-650, 1927.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Os antioxidantes**. Disponível em: www.revista-fi.com/materias/83.pdf. Acesso em: 20 nov. 2014.

FLONARR. **Características da UC**. Disponível em: <http://flonarr.blogspot.com.br/p/caracteristicas-da-uc.html>. Acesso em: 11 maio 2015.

GREGORIS, E.; STEVANATO, R. Correlations between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian propolis. **Food and Chemical Toxicology**, [S.l.], v. 48, s./n., p. 76-82, 2010.

INOUE, H. T. et al. Produção de própolis por diferentes métodos de coleta. **Archivos latinoamericanos de producción animal**, [S.l.], v. 15, n. 2, p. 65-69, 2007.

IBGE. **Pecuária 2012: Produção de mel de abelha nos municípios de Roraima**. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/comparamun/compara.php?lang=&coduf=14&idtema=121&codv=v21&search=roraima|boa-vista|sintese-das-informacoes-2012>. Acesso em: 15 maio 2015a.

_____. **Mapa de biomas e de vegetação**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm>. Acesso em: 15 maio 2015b.

IBGE. **Manual técnico da vegetação brasileira**. 2.ed. Rio de Janeiro, 2012.

IKEGAKI, M. **Determinação da qualidade de própolis de *Apis mellifera* africanizada da região sul do Brasil: Avaliação de algumas propriedades físico-químicas e biológicas da própolis**. 2001. 83p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Pós-graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2001.

INMET. **Instituto Nacional de Meteorologia**. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo2/mapasPrecipitacao>. Acesso em: 16 jun. 2016.

INPA. **Distribuição das chuvas em Roraima**. Amazonas, 1997. 11 p.

KÖPPEN CLIMATE CLASSIFICATION. Disponível em: <http://hanschen.org/koppen/>. Acesso em: 21 set. 2016.

LACERDA, R. C. C. **Avaliação da composição química e atividade antioxidante da própolis orgânica de *Apis mellifera* visando à preservação ambiental do ecossistema envolvido**. 2012. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Pós-graduação em Ciências, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

LENGLER, S. **Própolis**. Disponível em: <http://www.brasilapicola.com.br/node/105>. Acesso em: 26 nov. 2014.

LOUREIRO, E. M. et al. Produção de própolis de *Apis mellifera* em apiários comerciais de dois municípios de Mato Grosso na Amazônia Meridional. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 2853-2863, 2013.

MARCUCCI, M. C.; WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis. **Apacame**, Campinas – SP, v.46, s./n., 1998.

MARTINEZ, O. A.; SOARES, A. E. E. Melhoramento genético na apicultura comercial para produção da própolis. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 13, n. 4, p. 982-990, out./dez., 2012.

MARGHITAS, L. A. et al. Validated method for estimation of total flavonoids in Romanian propolis. **Journal Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca**, [S.I.], v. 63/64, s./n., p. 164-169, 2007.

MELO, A. A. M.; MATSUDA, A. H.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Identity and quality of propolis from four regions of Brazil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, n. 3, p. 540-548, 2012.

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

MIHAI, C. M. et al. Correlation between polyphenolic profile and antioxidant activity of propolis from Transylvania. **Animal Science and Biotechnologies**, [S.I.], v. 44, n. 2, p. 100-103, 2011.

MORGADO, C. M. A. et al. Conservação pós-colheita de goiabas 'kumagai': efeito do estágio de maturação e da temperatura de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 1001-1008, dez., 2010.

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Japanese Society for Food Science and Technology**, [S.I.], v. 39, n. 10, p. 925-928, 1992.

NASCIMENTO, E. A. et al. Atividade antioxidante de própolis verde, marrom e avermelhada de regiões que contêm alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*). **Apacame**, Campinas – SP, v. 92, s./n., 2007.

NENADIS, N.; WANG, L. F.; TSIMIDOU, M. Z. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS•+ assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.I.], v. 52, s./n., p. 4669-4674, 2004.

NUNES, L. C. C. et al. Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.I.], v. 19, n. 2, p. 524-529, abr./jun., 2009.

OLDONI, T. L. C. et al. Chemical characterization and optimization of the extraction process of bioactive compounds from propolis produced by selected bees *Apis mellifera*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S.I.], v. 26, n. 10, p. 2054-2062, 2015.

OLIVEIRA, K. A. M. et al. Antimicrobial activity and quantification of flavonoids and phenolics in different extract of propolis. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 211-222, 2012.

PARK, Y. K. et al. **Atividade biológica do própolis**. Disponível em: www.bioessens.com/atividade.htm. Acesso em: 20 nov. 2014.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M. Classificação das própolis brasileira a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Apacame**, Campinas - SP, v. 58, s./n., 2000.

PARK, Y. K. et al. Determinação das atividades citotóxicas e anti-HIV dos extratos etanólicos de própolis coletadas em diferentes regiões do Brasil. **Apacame**, Campinas – SP, v. 52, s./n., 2000.

PARK, Y. K. et al. Propolis produced in south Brazil, Argentine and Uruguay: phytochemical evidence for the plant origin. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 997-1003, 2002.

PINTO, L. M. A.; PRADO, N. R. T.; CARVALHO, L. B. Propriedades, usos e aplicações da própolis. **Revista Eletrônica de farmácia**, [S.l.], v. 8, n. 3, p. 76-100, 2011.

PONTES, J. **Agricultores apostam em Roraima entre maiores produtores de mel do Brasil**. Disponível em: <http://www.portalamazonia.com.br/editoria/economia/agricultores-apostam-em-roraima-entre-maiores-produtores-de-mel-do-brasil/>. Acesso em: 15 maio 2015.

PONTIS, J. A. et al. Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 34, n. 1, p. 69-73, jan./mar., 2014.

POPOVA, M. et al. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. **Phytochemical Analysis**, [S.l.], v. 15, s./n., p. 235-240, 2004.

PUKER, A. et al. Propolis produced by africanized honeybees in the Cerrado-Pantanal ecotone: effects of seasonality in production and physico-chemical characteristics. **Sociobiology**, [S.l.], v. 56, n. 1, p. 149-162, 2010.

ROCKENBACH, I. I. et al. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinífera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, s./n., p. 238-244, 2008.

RUFINO, M. S. M. **Metodologia Científica**: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. Disponível em: http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Cot_128.pdf. Acesso em: 10 nov. 2015.

SFORCIN, J. M. et al. Seasonal effect of brazilian propolis on *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v. 7, n. 1, s./p., 2001.

SALATINO, A. et al. **Origin and chemical variation of brazilian propolis**. Cambridge: Oxford University Press, s./n., 2005, p. 33–38.

SANTOS, F. A. et al. Brazilian propolis: physicochemical properties, plant origin and antibacterial activity on periodontopathogens. **Phytotherapy**, [S.l.], v. 17, s./n., 285-289, 2003.

SANFORD, M. T. Apicultura no Brasil: Um Gigante Adormecido Desperta. Parte I. **Apacame**, Campinas – SP, v. 83, s./n., 2005.

SÁ, P. G. S. et al. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (*Selaginellaceae*). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [S.l.], v. 33, n. 4, p. 561-566, 2012.

SEBRAE. **Brasil**: potencial fabuloso para atividade apícola. Disponível em: www.sebraemercados.com.br/brasilpotencialfabulosoparaatividadeapicola. Acesso em: 23 jan. 2015a.

_____. **O mercado da própolis**. Disponível em: www.sebrae2014.com.br/sebrae/sebrae%202014/2013_09_20_BO_Agosto_Agronegocio_Própolis2.pdf. Acesso em: 22 jan. 2015b.

SIMOES-AMBROSIO, L. M. C. et al. The role of seasonality on the inhibitory effect of Brazilian green propolis on the oxidative metabolism of neutrophils. **Fitoterapia**, [S.l.], v. 81, s./n., p. 1102-1108, 2010.

SILVA, R. A. et al. Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1842-1848, 2006.

SOUZA, E. A. et al. Propriedade físico-química da própolis em função da sazonalidade e método de produção. **Archivos de Zootecnia**, [S.l.], v. 59, n. 228, p. 571-576, 2010.

SOUSA, J. P. B. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2007.

SOUZA-SARTORI, J. A. et al. Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com atividade antioxidante total. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 297-307, mar./abr., 2013.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Paraná, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

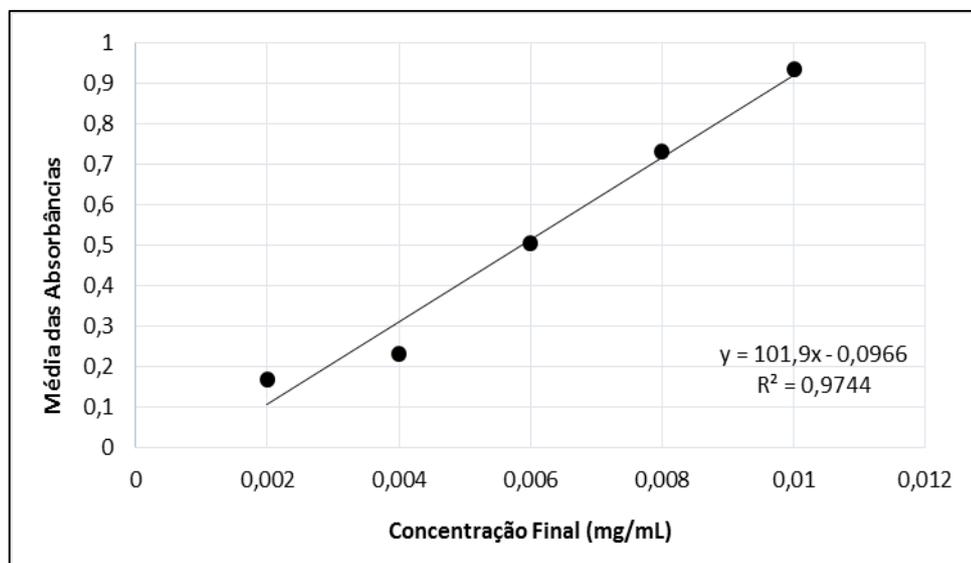
TYLKOWSKI, B. et al. Extraction of biologically active compounds from propolis and concentration of extract by nanofiltration. **Journal of Membrane Science**, [S.l.], v. 348, s./n., p. 124-130, agos./nov., 2010.

TRUSHEVA, B.; TRUNKOVA, D.; BANKOVA, V. Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. **Chemistry Central Journal**, [S.l.], v. 1, n. 13, p. 1-4, 2007.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - CURVA DE CALIBRAÇÃO COM ÁCIDO GÁLICO A 798 nm PARA A QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS NAS AMOSTRAS DE PROPOLIS ESTUDADAS

Concentração final (mg/mL)	Média e desvio padrão das absorbâncias (nm)
0,002	0,169 ± 0,038
0,004	0,23 ± 0,048
0,006	0,505 ± 0,069
0,008	0,734 ± 0,137
0,01	0,936 ± 0,104



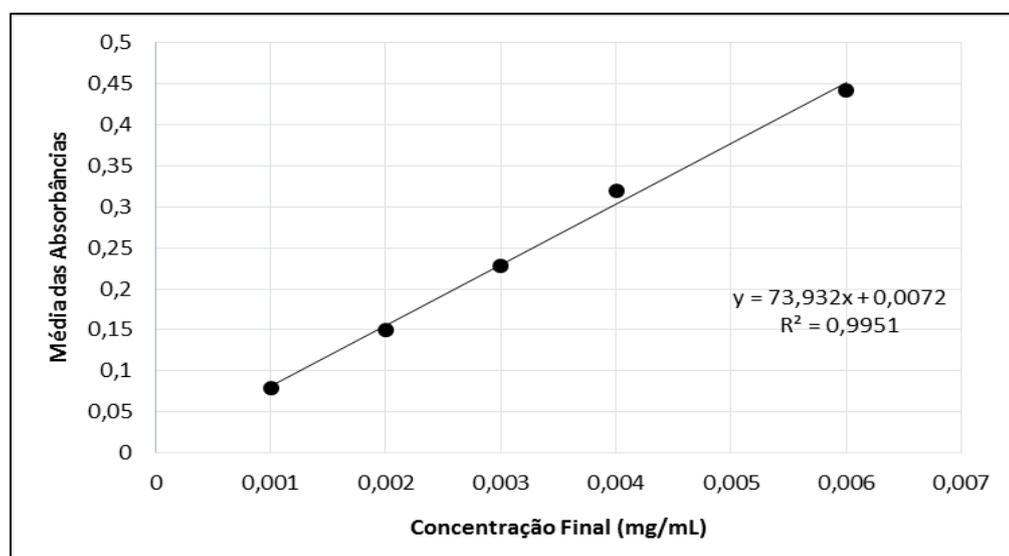
APÊNDICE 2 - ABSORBÂNCIAS DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS ESTUDADAS, APÓS A REAÇÃO COM FOLIN- CIOCALTEU À 798 nm PARA A QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS

AMOSTRAS	Média e desvio padrão das absorbâncias (nm)	
	Período chuvoso	Período seco
MJ	0,163 ± 0,004	0,203 ± 0,011
BVA	0,591 ± 0,019	0,294 ± 0,014
CR	0,561 ± 0,002	0,276 ± 0,016
BVC	0,468 ± 0,016	0,329 ± 0,01
BVM	0,375 ± 0,013	0,162 ± 0,003
BF	0,613 ± 0,069	0,339 ± 0,003

Legenda: MJ, BVA, CR= área de floresta; BVC, BVM, BF= área de savana. MJ= Mucajaí/Tamandaré; BVA= Boa Vista/Alvorada; CR= Caracaraí/Novo Paraíso; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia; BF= Bonfim/Confiança.

APÊNDICE 3 - CURVA DE CALIBRAÇÃO COM QUERCETINA A 441 nm PARA A QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONAS E FLAVONOIS NAS AMOSTRAS DE PROPOLIS ESTUDADAS

Concentração final (mg/mL)	Média e desvio padrão das absorvâncias (nm)
0,001	0,079 ± 0,001
0,002	0,15 ± 0,007
0,003	0,228 ± 0,009
0,004	0,32 ± 0,005
0,006	0,442 ± 0,014



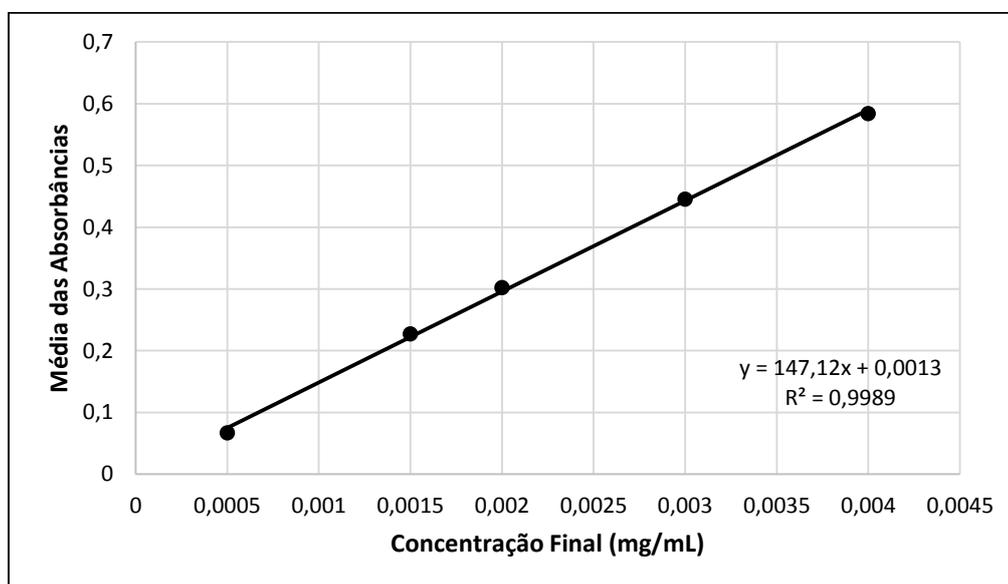
APÊNDICE 4 - ABSORBÂNCIAS DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS ESTUDADAS, APÓS A REAÇÃO COM CLORETO DE ALUMÍNIO À 441 nm PARA A QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONAS E FLAVONOIS

AMOSTRAS	Média e desvio padrão das absorbâncias (nm)	
	Período chuvoso	Período seco
MJ	0,087 ± 0,020	0,038 ± 0,004
BVA	0,080 ± 0,013	0,110 ± 0,002
CR	0,216 ± 0,028	0,141 ± 0,007
BVC	0,081 ± 0,014	0,027 ± 0,001
BVM	0,109 ± 0,049	0,048 ± 0,016
BF	0,149 ± 0,009	0,212 ± 0,005

Legenda: MJ, BVA, CR= área de floresta; BVC, BVM, BF= área de savana. MJ= Mucajaí/Tamandaré; BVA= Boa Vista/Alvorada; CR= Caracarái/Novo Paraíso; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia; BF= Bonfim/Confiança.

APÊNDICE 5 - CURVA DE CALIBRAÇÃO COM PINOCEMBRINA A 493 nm PARA A QUANTIFICAÇÃO DE FLAVANONAS E DIIDROFLAVONOIS NAS AMOSTRAS DE PROPOLIS ESTUDADAS

Concentração final (mg/mL)	Média e desvio padrão das absorbâncias (nm)
0,0005	0,067 ± 0,003
0,0015	0,227 ± 0,002
0,002	0,302 ± 0,003
0,003	0,445 ± 0,008
0,004	0,584 ± 0,025



APÊNDICE 6 - ABSORBÂNCIAS DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS ESTUDADAS, APÓS A REAÇÃO COM 2,4 – DINITROFENILIDRAZINA (DNP) À 493 nm PARA A QUANTIFICAÇÃO DE FLAVANONAS E DIIDROFLAVONOIS

AMOSTRAS	Média e desvio padrão das absorbâncias (nm)	
	Período chuvoso	Período seco
MJ	0,175 ± 0,012	0,185 ± 0,031
BVA	0,129 ± 0,004	0,179 ± 0,029
CR	0,166 ± 0,017	0,143 ± 0,023
BVC	0,171 ± 0,011	0,182 ± 0,006
BVM	0,154 ± 0,009	0,154 ± 0,015
BF	0,172 ± 0,004	0,244 ± 0,028

Legenda: MJ, BVA, CR= área de floresta; BVC, BVM, BF= área de savana. MJ= Mucajaí/Tamandaré; BVA= Boa Vista/Alvorada; CR= Caracarái/Novo Paraíso; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia; BF= Bonfim/Confiança.

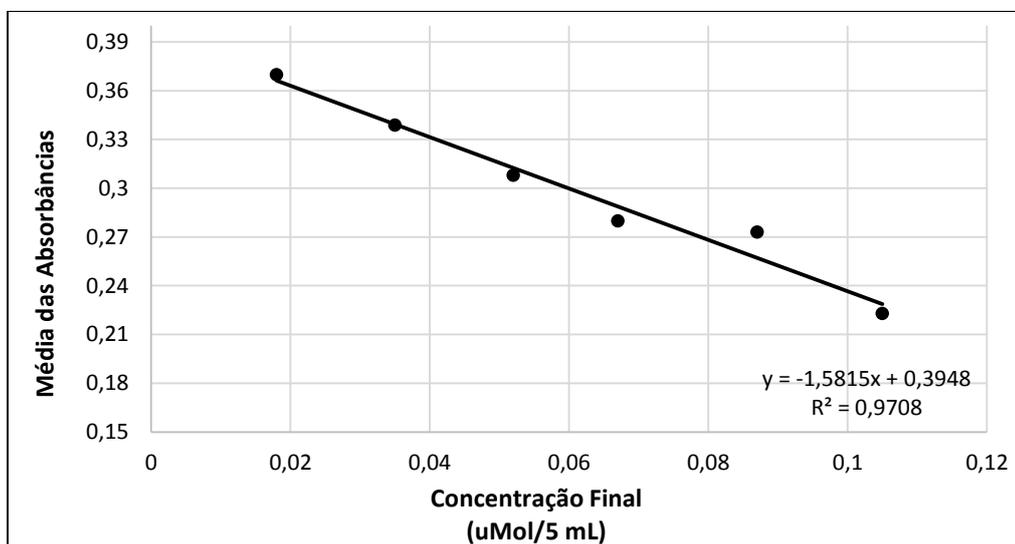
APÊNDICE 7 - ABSORBÂNCIAS DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS ESTUDADAS, APÓS A REAÇÃO COM CLORETO DE ALUMÍNIO À 535 nm PARA A QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS

AMOSTRAS	Média e desvio padrão das absorbâncias (nm)	
	Período chuvoso	Período seco
MJ	0,053 ± 0,003	(-)
BVA	0,012 ± 0,003	0,009 ± 0,003
CR	0,005 ± 0,001	0,087 ± 0,007
BVC	0,029 ± 0,002	0,025 ± 0,003
BVM	0,032 ± 0,003	0,036 ± 0,005
BF	(-)	0,116 ± 0,004

Legenda: (-) = Não analisado. MJ, BVA, CR= área de floresta; BVC, BVM, BF= área de savana. MJ= Mucajaí/Tamandaré; BVA= Boa Vista/Alvorada; CR= Caracaraí/Novo Paraíso; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia; BF= Bonfim/Confiança.

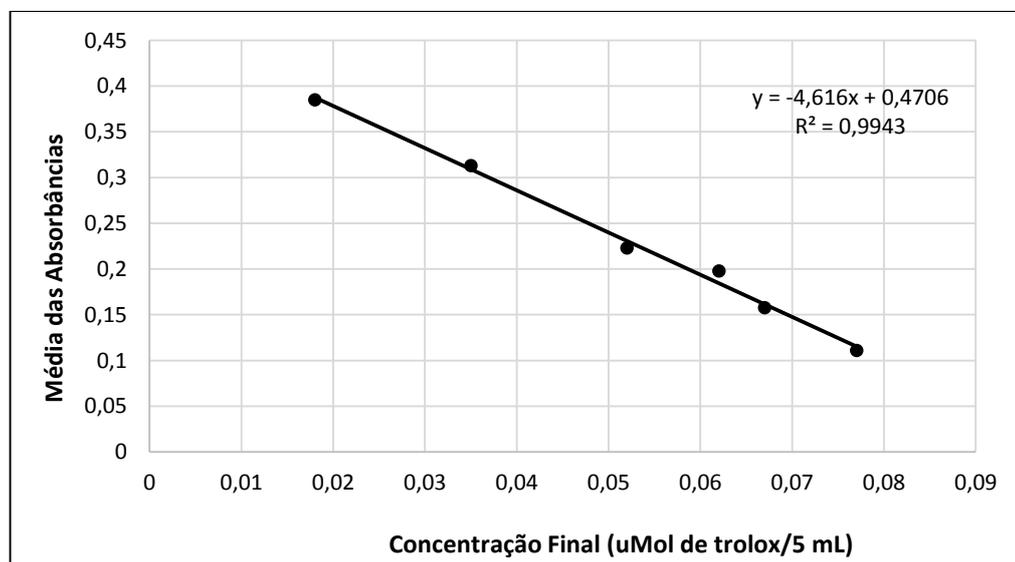
APÊNDICE 8 - CURVA DE CALIBRAÇÃO COM TROLOX À 515 nm PARA DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS DE FLORESTA COLETADAS NO PERÍODO CHUVOSO

Concentração final ($\mu\text{Mol}/5 \text{ mL}$)	Média e desvio padrão das absorvâncias (nm)
0,018	$0,37 \pm 0,013$
0,035	$0,339 \pm 0,005$
0,052	$0,308 \pm 0,008$
0,067	$0,280 \pm 0,004$
0,087	$0,273 \pm 0,006$
0,105	$0,223 \pm 0,010$



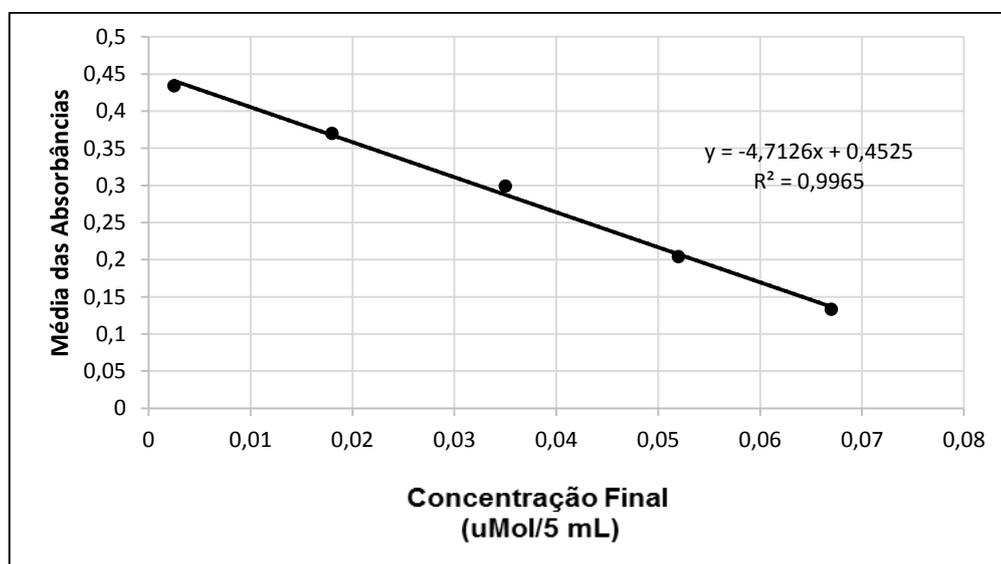
APÊNDICE 9 - CURVA DE CALIBRAÇÃO COM TROLOX À 515 nm PARA A DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS DE SAVANA COLETADAS NO PERÍODO CHUVOSO

Concentração final ($\mu\text{Mol}/5 \text{ mL}$)	Média e desvio padrão das absorbâncias (nm)
0,018	$0,385 \pm 0,002$
0,035	$0,313 \pm 0,002$
0,052	$0,223 \pm 0,001$
0,062	$0,198 \pm 0,005$
0,067	$0,158 \pm 0,003$
0,077	$0,111 \pm 0,001$



APÊNDICE 10 - CURVA DE CALIBRAÇÃO COM TROLOX À 515 nm PARA DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS DE FLORESTA E SAVANA COLETADAS NO PERÍODO SECO

Concentração final ($\mu\text{Mol}/5 \text{ mL}$)	Média e desvio padrão das absorbâncias (nm)
0,0025	$0,434 \pm 0,004$
0,018	$0,370 \pm 0,001$
0,035	$0,299 \pm 0,007$
0,052	$0,204 \pm 0,001$
0,067	$0,133 \pm 0,005$



APÊNDICE 11 - ABSORBÂNCIAS DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS DE FLORESTA E SAVANA COLETADAS NOS PERÍODOS CHUVOSO E SECO, APÓS A REAÇÃO COM DPPH À 515 nm PARA A DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

AMOSTRAS	Média e desvio padrão das absorbâncias (nm)	
	Período chuvoso	Período seco
MJ	0,305 ± 0,010	0,218 ± 0,006
BVA	0,267 ± 0,012	0,274 ± 0,006
CR	0,288 ± 0,004	0,307 ± 0,011
BVC	0,212 ± 0,003	0,136 ± 0,007
BVM	0,224 ± 0,005	0,223 ± 0,021
BF	0,262 ± 0,003	0,230 ± 0,045

Legenda: MJ, BVA, CR= área de floresta; BVC, BVM, BF= área de savana. MJ= Mucajaí/Tamandaré; BVA= Boa Vista/Alvorada; CR= Caracaraí/Novo Paraíso; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia; BF= Bonfim/Confiança.

APÊNDICE 12 - ABSORBÂNCIAS DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS DE FLORESTA E SAVANA COLETADAS NOS PERÍODOS CHUVOSO E SECO, APÓS OXIDAÇÃO DO SISTEMA *B*-CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO À 470 nm PARA A DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

AMOSTRAS	MÉDIA DAS ABSORBÂNCIAS (nm)			
	Período chuvoso		Período seco	
	Tempo "0"	Tempo "120"	Tempo "0"	Tempo "120"
MJ	0,564	0,501	0,660	0,567
BVA	0,643	0,513	0,671	0,583
CR	0,612	0,561	0,675	0,538
BVC	0,613	0,500	0,658	0,577
BVM	0,598	0,480	0,659	0,533
BF	0,608	0,533	0,677	0,632

Legenda: MJ, BVA, CR= área de floresta; BVC, BVM, BF= área de savana. MJ= Mucajai/Tamandaré; BVA= Boa Vista/Alvorada; CR= Caracará/Novo Paraíso; BVC= Boa Vista/Monte Cristo; BVM= Boa Vista/PA Nova Amazônia; BF= Bonfim/Confiança.