



# Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais

Elizângela Alves<sup>1,\*</sup>; Ernesto Hashime Kubota<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos (CCR- UFSM). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Professor Dr. do Centro de Ciências Rurais. (CCR- UFSM). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

## RESUMO

Neste trabalho foram determinadas algumas características físico-químicas de própolis de Santa Maria- RS. Foram analisadas seis amostras comerciais obtidas em farmácias e lojas de produtos naturais na cidade citada. A composição química, quanto aos fenólicos e flavonoides totais, assim como a atividade antioxidante, foi testada e comparada. A alta atividade antioxidante dos extratos puros (ou diluídos) foi explicada pelo teor dos flavonoides e fenólicos totais, confirmando a relação desses compostos na ação preventiva contra radicais livres. As seis amostras comerciais analisadas possuíram de fenólicos 70,60 mg a 539,10 mg (expresso em mg de ácido gálico/g de extrato de própolis) e de flavonoides 48,95 mg a 114,50 mg (expresso em mg de quercetina/g de extrato de própolis). A atividade antioxidante maior foi do extrato aquoso, tanto pela inibição do radical DPPH quanto pela atividade quelante. No extrato aquoso de própolis obteve-se resultados satisfatórios para uma futura aplicação em alimento.

*Palavras-chave:* Compostos fenólicos. Flavonoides. Própolis. Atividade antioxidante. Extrato etanólico.

## INTRODUÇÃO

Sabe-se que as abelhas *Apis mellifera* produzem, além do mel, outras substâncias como geleia real e própolis, que têm sido relatadas como substâncias com propriedades antimicrobianas e antioxidantes (Nagai et al., 2001; Nagai & Inoue, 2007; Stocker et al., 2005; Weston, 2000).

A própolis é uma mistura complexa, formada por material resinoso e balsâmico coletado pelas abelhas melíferas de ramos, flores, pólen, brotos, botões florais e exsudados de plantas, à qual as abelhas adicionam secreções salivares, cera e pólen, para a elaboração do produto final. Sendo utilizada pelas abelhas para eliminar possíveis invasores e selar aberturas na colmeia (Crane, 1997; Pereira et al., 2002).

O uso do extrato etanólico da própolis destaca-se pelas propriedades farmacológicas em *sprays* antissépticos bucais e nasais, assim como o uso do extrato puro no combate a gripes e resfriados. As atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, cicatrizante, anestésica, antioxidante e estimuladora do sistema imunológico vêm proporcionando a aplicabilidade pela indústria farmacêutica e alimentícia, na forma de alimentos funcionais (Park et al., 1998).

A prevenção da oxidação lipídica é uma das buscas na indústria cárnea, já que seus produtos são indesejáveis não somente pela produção de odores e *flavours* ofensivos, como resultado da decomposição de lipídios e produção de compostos voláteis, mas também, pela destruição de constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional dos alimentos e a formação de compostos tóxicos durante o processamento (Frankel, 1996; Kahl & Hildebrandt, 1986).

Os antioxidantes sintéticos amplamente utilizados como o butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), t-butil-hidroquinona (TBHQ) e o galato de propila (PG), têm sido questionados, ao passo que antioxidantes naturais, como o tocoferol, polifenóis da erva-mate e da marcela e pigmentos carotenoides de frutas tropicais, têm apresentado uma grande relevância na proteção contra a oxidação lipídica (Romero et al., 2007).

A necessidade de determinação das características dos extratos de própolis comercializados na cidade de Santa Maria, no Rio Grande do Sul (RS), fez do objetivo deste trabalho avaliar o teor de fenólicos e flavonoides totais e a atividade antioxidante *in vitro* das amostras de extratos de própolis utilizando como comparativos antioxidantes sintéticos e as metodologias que seguem abaixo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os extratos de própolis foram obtidos em farmácias e lojas de produtos naturais de Santa Maria-RS. Foram identificadas pelas letras A, B, C, D, E, os extratos etanólicos, e F, o extrato aquoso. A concentração de extrato seco descrita no rótulo de todas as amostras foi de 11,0%, exceto a B que foi de 12,0%.

Os reagentes líquidos (Folin Ciocalteu, ( $\pm$ ) -  $\alpha$  - Tocoferol e álcool metílico) e os sólidos (carbonato de sódio anidro, ácido gálico, cloreto de alumínio, quercetina, 2,2-difenil-1-picrilidrazila, utilizados foram das marcas Sigma Chemical Co, Merck e Synth. As soluções foram

preparadas com os solventes adequados (água destilada e álcool metílico, por exemplo), visando-se minimizar a contaminação das análises.

## Métodos

O conteúdo de fenólicos e flavonoides totais dos produtos de abelha *Apis mellifera* foi determinado conforme as metodologias descritas a seguir.

### Conteúdos de fenólicos totais

Para a determinação de fenólicos totais foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu (Ahn et al., 2004; Singleton et al., 1999). As amostras (0,5 mL) foram diluídas para 50 mL, com água destilada e filtradas em papel de filtro Wathman nº1. Esta solução (0,5 mL) foi então misturada com 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu 0,2 N por cinco minutos e, por fim, adicionou-se 2 mL de solução de carbonato de sódio (7,5%). Após a incubação, à temperatura ambiente, no escuro, por 2 horas, a absorbância foi medida a 760 nm contra o branco, que se consistiu de metanol e comparada com a curva padrão de ácido gálico, em quatro pontos de concentrações (2, 4, 6 e 8 µg/mL).  $Y=0,0685x - 0,078$ , onde  $y$  é a absorbância e  $x$  é a concentração;  $R^2 = 0,9996$ . O conteúdo total de fenólicos foi expresso em mg equivalente de ácido gálico por grama de extrato de própolis, considerando-se o teor de extrato seco das mesmas.

### Conteúdo de flavonoides totais

O conteúdo total de flavonoides foi determinado usando o método de Dowd adaptado (Arvouet-Grand et al., 1994). Resumidamente, 500 µL de cloreto de alumínio ( $AlCl_3$ ) a 2% em metanol foram misturados com o mesmo volume da solução de amostra (100 µL de extrato para 50 mL de água destilada). Quanto à absorbância, leu-se 425 nm após dez minutos contra um branco, consistindo de uma solução de 500 µL de metanol com 500 µL de cloreto de alumínio [ $AlCl_3$ ]. O conteúdo total de flavonoides foi determinado usando uma curva padrão de quercetina em quatro pontos de concentrações (5, 10, 20 e 40 µg/mL).  $Y=0,0063x - 0,0048$ , onde  $y$  é a absorbância e  $x$  é a concentração;  $R^2 = 0,9999$ . O conteúdo total de flavonoides foi expresso como mg de equivalentes de quercetina por grama de extrato de própolis, considerando o teor de extrato seco das mesmas.

## Atividade antioxidante

### Capacidade de sequestro de radical 2,2 difenil-1-picrilhidrazila (DPPH)

A medida da capacidade sequestrante foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995). Preparou-se uma solução 0,1 mM de DPPH em etanol e, 1,0 mL desta solução foram adicionadas a 250 µL das amostras diluídas (na proporção 1/10, em água destilada).

Após 20 minutos, mediu-se a absorbância a 525 nm. A capacidade de sequestro de radical DPPH foi calculada de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Capacidade de sequestro de radical DPPH (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0]100,$$

Onde:  $A_0$  foi a absorbância do controle e  $A_1$  a absorbância na presença do composto.

### Atividade quelante de íon ferroso

A atividade quelante de metais foi determinada de acordo com o método de Dinis et al. (1994). Para a reação, foram utilizadas 50 µL de cada amostra sem diluir previamente.

Os extratos foram adicionados numa solução de cloreto férrico 2 mM (0,05 mL). A reação iniciava através da adição de 5 mM de ferrozina (0,2 mL), a mistura agitada vigorosamente e mantida à temperatura ambiente por dez minutos. A absorbância da solução foi medida espectrofotometricamente a 562 nm. A percentagem de inibição da formação do complexo ferrozina- $Fe^{+2}$  foi dada pela fórmula:

$$\text{Atividade quelante de íon ferroso} = [(A_0 - A_1)/A_0]100,$$

Onde:  $A_0$  foi a absorbância do controle e  $A_1$  a absorbância na presença de amostras.

## Análise estatística

Todas as medidas foram feitas em triplicata. Os resultados foram analisados com o programa Statistica 6.0., usando ANOVA e Teste- $t$  Student's (valor de  $p \leq 0,05$ ) quando adequado para a interpretação.

## RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os teores encontrados de fenólicos totais e flavonoides totais das amostras de extratos comerciais de própolis analisadas. Os teores encontrados variaram de  $70,60 \pm 0,07$  a  $539,10 \pm 1,51$  mg equivalente de ácido gálico por grama para fenólicos totais e de  $48,95 \pm 0,13$  a  $114,50 \pm 0,13$  mg equivalente de quercetina por g para flavonoides totais.

A Tabela 2 mostra a atividade antioxidante das amostras de extratos comerciais de própolis quanto à atividade quelante de ferro e capacidade sequestrante de DPPH. Quanto à atividade quelante, as amostras E e F, embora sem diferença estatisticamente significativa entre elas, apresentaram os valores mais elevados de capacidade complexante, 42,75% e 37,86%, respectivamente.

Tabela 1 - Conteúdos totais de flavonóides e dos fenólicos totais em amostras comerciais dos extratos de própolis de Santa Maria-RS

Amostras	Fenólicos (mg de ácido gálico/100g)	Flavonóides (mg de quercetina/100g)
A	299,57 ± 1,19c	70,06 ± 0,07 <sup>a</sup>
B	70,60 ± 0,24a	48,95 ± 0,13 <sup>a</sup>
C	123,52 ± 0,40b	80,66 ± 0,11 <sup>a</sup>
D	389,03 ± 0,48c	81,37 ± 0,04 <sup>a</sup>
E	345,74 ± 0,33c	110,61 ± 0,06b
F	539,10 ± 1,51d	114,50 ± 0,13b

Os resultados acima são a média ± desvio padrão (n=3).

Valores com a mesma letra não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2 - Valores % atividade quelante de metal e capacidade sequestrante de DPPH em amostras comerciais de extratos de própolis de Santa Maria-RS

Amostras	% atividade quelante	% sequestrante de DPPH
A	13,05 ± 1,05 <sup>a</sup>	91,83 ± 0,08a
B	16,31 ± 2,22 <sup>a</sup>	80,55 ± 0,76b
C	12,38 ± 0,72 <sup>a</sup>	92,56 ± 0,08a
D	1,01 ± 1,59 (*)	91,83 ± 0,80a
E	42,76 ± 1,60b	89,68 ± 0,21b
F	37,86 ± 3,06b	89,31 ± 0,60b

Os resultados acima são a média ± desvio padrão (n=3).

Valores com a mesma letra não diferem estatisticamente (p<0,05).

(\*) A amostra D não se comportou conforme o esperado na técnica, ficando os valores de atividade quelante muito abaixo das demais.

## DISCUSSÃO

As variações nas concentrações de fenólicos totais e de flavonoides totais ocorre em função de diferentes fatores, tais como a ecologia da flora (Park et al., 2002), pelo período da coleta da resina (Santos et al., 2003), pela genética da abelha rainha (Park et al., 1998), pela flora local e região da coleta (Bankova, 2005; Sousa et al., 2007).

A amostra que apresentou o teor mais elevado de fenólicos totais foi a F (539,10 ± 1,51 mg, equivalente de ácido gálico por grama), que era um extrato aquoso, ao contrário das demais que eram extratos etanólicos. Quanto aos flavonoides totais, a amostra que apresentou o teor mais elevado foi também a amostra F (114,50 ± 0,13 mg, equivalente de quercetina por grama), porém não diferindo estatisticamente da amostra E (110, 61 ± 0,06 mg de equivalente quercetina por grama).

Os valores encontrados nesse trabalho estão dentro dos padrões encontrados por outros autores (Kalogeropoulos et al., 2009; Moreira et al., 2008), sendo que os valores de flavonoides totais são inferiores ao de fenólicos totais.

Os extratos etanólicos de própolis devem conter, no mínimo, 0,25% de flavonoides e 0,50% de fenólicos (Brasil, 2001). O conteúdo médio de compostos flavonoides e fenólicos (dados não mostrados) foram 0,94 g% e 3,25 g%, respectivamente, verificando que todas as amostras estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação quanto a esses dois parâmetros.

Como a composição química da própolis é dependente da localização geográfica, a relação entre os fenólicos totais e flavonoides totais está relacionada com a flora e região da coleta (Bankova, 2005; Park et al., 2002). Em estudo realizado sobre a atividade antimicrobiana de própolis (Castro et al., 2007) foram encontrados teores de fenólicos (22,03 ± 0,01 a 39,38 ± 0,01 mg/mL) dez vezes maiores do que o de flavonoides totais (2,47 ± 0,15 a 4,41 ± 0,02 mg/mL) para o extrato de própolis oriundo da região Nordeste do Brasil (Tipo 6); já no extrato de própolis oriundo da região Sudeste (Tipo 12), os teores de fenólicos totais (59,98 ± 2,25 a 94,98 ± 3,23 mg/mL) foi aproximadamente o dobro dos teores de flavonoides totais (21,52 ± 0,01 a 47,31 ± 0,06 mg/mL).

Outros autores (Cabral et al., 2008) demonstraram também que os teores de compostos fenólicos totais podem

variar de acordo com o solvente usado na obtenção do extrato de própolis, sendo que os valores encontrados variaram de 154,83 mg a 295,29 mg/100 g de própolis e o extrato etanólico foi o que apresentou o valor mais elevado.

A atividade antioxidante de compostos pode ser de dois tipos: primária quando se liga a radicais livres ou secundária quando possui capacidade quelante de metais de transição. O sinergismo aparece quando ocorrem os dois mecanismos (Fennema, 2000).

Segundo Dinis et al. (1994) ao ligarem-se ao íon ferro (metal catalisador de reações), as drogas acetaminofeno e salicilato inibem a continuidade da propagação da peroxidação lipídica, efeito este que os extratos de própolis também devem provocar ao se complexar com o ferro.

O metal de transição ferro está naturalmente presente em diferentes alimentos, como nas carnes e pescados, ligado à mioglobina e à hemoglobina e, assim como o cobre, são pró-oxidantes do processo de iniciação da oxidação de lipídios (Shahidi & Hong, 1991). Assim, a oxidação lipídica de carnes e pescados seria inibida na ausência de oxigênio, energia e metais (Santos et al., 2003).

A oxidação lipídica também está intimamente relacionada com a oxidação de cor. O fenômeno de esverdeamento da linguiça ocorre devido à oxidação do pigmento mioglobina; esta pode levar à oxidação lipídica, a qual também pode ser induzida por outros componentes que possuem ferro ou pelo ferro livre (Olivo et al., 2001).

Com relação capacidade sequestrante de DPPH as amostras apresentaram valores entre 80,55 a 92,56%. Os valores encontrados são superiores aos relatados por outros autores, em que a capacidade sequestrante de DPPH do extrato etanólico de própolis apresentou 61,26% de atividade e o padrão de  $\alpha$ -tocoferol apresentou 86,7% (Crane, 1997).

O DPPH é sequestrado pelos compostos fenólicos por dois mecanismos: (1) conforme a habilidade de doação de hidrogênio aos compostos da reação em cadeia, tornando-os produtos finais estáveis e (2) doação de elétrons do ânion fenóxido (ArOH) para o DPPH. A escolha dos mecanismos depende do poder redox das espécies envolvidas e do número de radicais hidroxil fenólico livres e as suas biodisponibilidades de conjugação (Fennema, 2000).

A atividade antioxidante forte na própolis pode vir dos flavonoides, como quercetina, flavonas, isoflavonas, flavononas, antocianinas, catequinas e isocatequinas. Porém os fenólicos podem participar juntos com os flavonoides na determinação dessas atividades antioxidantes (Castro et al., 2007; Silva et al., 2006).

A quercetina quando comparada ao ácido ascórbico é um bom quelante e sequestrador de radical livre, não permitindo a ação das espécies reativas de oxigênio. Já o ácido ascórbico atua como pró-oxidante na presença de metal, gerando espécies reativas de oxigênio, causando uma grande agressão à camada lipídica (Figueiredo et al., 2006).

Os óleos essenciais e o extrato da própolis possuem cheiro característico que podem limitar o seu uso, porém se os níveis adicionados forem adequados os mesmos podem apresentar atividade antioxidante sem afetar o odor do alimento (Mariutti et al., 2007).

Sendo assim pode-se concluir que as amostras de própolis possuem compostos fenólicos e flavonoides

nas quantidades exigidas pela legislação. A atividade antioxidante foi comprovada por dois mecanismos (quelante de metal e sequestrante de radical livre). Os extratos que apresentaram melhor capacidade antioxidante foram as amostras E (etanólico) e F (aquoso).

## ABSTRACT

### *Phenolic and flavonoid content and antioxidant activity of commercial propolis samples*

**In this study we determined some of the physical and chemical characteristics of propolis from the district of Santa Maria in southern Brazil. The samples were obtained from pharmacies and health food stores in that city. The chemical composition, with respect to phenolics and flavonoids, and antioxidant activity were tested and compared. The high antioxidant activity of pure extracts (aqueous or ethanolic) was explained by the phenolics and flavonoids content, confirming the close relationship between these compounds and the preventive action against free radicals. The six samples analyzed possessed from 70.60 mg to 539.10 mg of phenolics (expressed in mg gallic acid / g of propolis extract) and from 48.95 mg to 114.50 mg of flavonoids (expressed in mg quercetin / g of propolis extract). The aqueous extract showed the highest contents of flavonoids and phenolics and the highest antioxidant activity, measured as chelating activity. The results obtained with aqueous propolis extract were satisfactory for future application in food.**

**Keywords:** Phenolic compounds. Flavonoids. Propolis. Antioxidant activity. Ethanol extract.

## REFERÊNCIAS

- Ahn MR, Kumazawa S, Hamasaka T, Bang KS, Nakayama T. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *Journal Agric Food Chem.* 2004;52(4):7286-92.
- Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *J Pharm Belg.* 1994;49(6):462-468 (13 ref.).
- Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol.* 2005;100(1-2):114-7.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens Wissens Technol.* 1995;28(1):25-30.
- Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAA). Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº3, de 19 de janeiro de 2001. Anexo VII. Brasília, DF; 2001.
- Cabral ISR, Oldoni TLC, Prado A, Bezerra RMN, Alencar SM, Ikegaki M, Rosalen P. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. *Quím Nova.* 2008;32(6):1523-27.
- Castro ML, Cury JA, Rosalen PL, Alencar SM, Masaharu I, Duarte S, Koo H. Própolis do Sudeste e Nordeste do Brasil: Influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. *Quim Nova.* 007;30(7):1512-16.
- Crane E. The past and present importance of bee products to man. New York: Plenum Press; 1997.
- Dinis TCP, Madeira VMC, Almerida LM. Action of phenolic derivatives as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch Biochem Biophys.* 1994;315(1):161-9.
- Fennema OR. *Química de los alimentos.* 2 ed. Zaragoza: Acribia, 2000.
- Figueiredo PSF, Oliveira RF, Silva JG, Alcanfor SKB, Romeiro LAS. Avaliação do perfil antioxidante da quercetina e quercetina - Cu (II) e sua relação com logP. In: 29. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; 2006; Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Química; 2006.
- Frankel EN. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food Chem.* 1996;57(1):51-5.
- Kahl R, Hildebrandt AG. Methodology for studying antioxidant activity and mechanisms of action of antioxidants. *Food Chem Toxicol.* 1986;24(10-11):1007-14.
- Kalogeropoulos N, Konteles SJ, Troullidou E, Mourtizinos I, Karathanos VT. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chem.* 2009;116(2):452-61.
- Mariutti LRB, Bragagnolo N. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae - Aplicação em Produtos Alimentícios. *Braz J Food Technol.* 2007;10(2):96-103.
- Moreira L, Dias LG, Pereira JA, Estevinho L. Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of própolis samples from Portugal. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(11):3482-5. DOI: 10.1016/j.fct.2008.08.025.
- Nagai T, Inoue R. Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food Chem.* 2004;84(2):181-86.
- Nagai T, Sakai M, Inoue R, Inoue H, Suzuki N. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chem.* 2001;75(2):237-40.
- Olivo R, Scares AL, Ida EI, Shimokomaki MJ. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. *J Food Biochem.* 2001;25(4):271-83.
- Park YK, Ikegaki M, Abreu JAS, Alcici NMF. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Cienc Tecnol Aliment.* 1998;18(3):313-18.
- Park YK, Alencar SM, Scamparini ARP, Aguiar CL. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai:

- Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. *Cienc Rural*. 2002;32(6):997-1003.
- Pereira A, Seixas F, Neto F. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. *Quim Nova*. 2002;25(2):321-326.
- Romero N, Robert P, Masson L, Ortiz J, Gonzalez K, Tapia K, Dobaganes C. Effect of  $\alpha$ -tocopherol,  $\alpha$ -tocotrienol and Rosa mosqueta shell extract on the performance of antioxidant-stripped canola oil (*Brassica* sp.) at high temperature. *Food Chemistry* 2007; 104(1), 383–389.
- Santos CR, Arcenio F, Carvalho ES, Lúcio EMRA, Araújo GL, Teixeira LA, Sharapin N, Rocha L. Otimização do processo de extração de própolis através da verificação da atividade antimicrobiana. *Rev Bras Farmacogn*. 2003;13(supl.1):71-74.
- Silva JFM, Souza MC, Matta SR, Andrade MR, Vidal FVN. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem*. 2006;99(3):431-435.
- Sousa JPB, Furtado NAJC, Jorge R, Soares AEE, Bastos JK. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG). *Rev Bras Farmacogn* 2007;17(1):85-93.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth Enzymology*. 1999;299:152-78. DOI: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- Stocker A, Schamel P, Kettrup A, Bengsch E. Trace and mineral elements in royal jelly and homeostatic effects. *J Trace Elem Med Biol*. 2005;19(2-3):183-9.
- Weston RJ. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chem*. 2000;71(2):235-239.

Recebido em 31 de maio de 2012.

Aceito para publicação em 10 de setembro de 2012

