



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dip. Scienze e tecnologie alimentari

Corso di Laurea triennale

COMPOSIZIONE E TECNICHE DI ANALISI
DELLA PROPOLI

Relatore

Prof. Vincenzi Simone

Laureando Marco Arru

Matricola n.1234535

A.A. 2023-2024

Indice

Capitolo 1 - Introduzione	1
1.1 Definizione.....	1
1.2 Origine e come si ottiene	2
1.3 Ruolo ecologico	5
1.4 Estrazione della propoli	6
1.5 Tipologie di propoli	8
Capitolo 2 - Composizione chimica della propoli.....	11
2.1 Proprietà organolettiche, fisiche e chimiche	11
2.2 Composizione della propoli	11
2.3 Proprietà benefiche	15
2.4 Effetti indesiderati.....	24
Capitolo 3 - Utilizzi della propoli in diversi ambiti	26
3.1 Uso nel passato	26
3.2 Uso ai giorni d'oggi	28
3.3 Come si assume la propoli	30
Capitolo 4 - Tecniche di analisi della propoli	34
4.1 Standardizzazione	34
4.2 Esigenza di un'analisi polistrumentale	36
4.3 Spettrometria e spettrofotometria.....	38
4.4 Analisi cromatografiche.....	40
4.5 Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare.....	42
4.6 Analisi spettrofotometrica per la determinazione del contenuto di classi di composti	44
Conclusioni	46
Bibliografia	48

Riassunto

La propoli è un prodotto naturale di origine sia vegetale che animale ottenuta dalle api, per questo motivo ci sono state divergenze nell'origine della propoli, all'inizio. La propoli presenta diverse tipologie in base a fattori ambientali, quali la fonte botanica e la zona geografica. Esistono le prime testimonianze dell'utilizzo della propoli da parte di antichi egizi, persiani e romani. Inoltre; documentato da diversi importanti autori di quel tempo nella preparazione e applicazione. La composizione della propoli si distingue per la sua complessità chimica eccessivamente eterogenea, rendendo estremamente complesso stabilire una standardizzazione universale della propoli. Quindi è necessario una analisi polistrumentale, confrontando analisi cromatografiche, spettroscopiche e spettrofotometriche. Sono presenti numerose ricerche, in particolare gli studi *in vitro*, e articoli sui benefici e sulla composizione della propoli. I risultati di tali pubblicazioni indicano che la propoli presenta proprietà notevoli e che sono stati approfonditamente esplorati diversi meccanismi d'azione. Comunque; è importante considerare alcune precauzioni e controindicazioni relative all'uso della propoli. Ai giorni d'oggi, la propoli viene utilizzata in svariati ambiti, che hanno portato a numerosi preparati della propoli in vari contesti.

Abstract

Propolis is a natural product of both plant and animal origin obtained from bees, that is because there were divergences in the origin of propolis in the beginning. Propolis has different types based on environmental factors such as botanical source and geographical area. There are early records of propolis use by ancient Egyptians, Persians and Romans. Also; documented by several important authors of that time in the preparation and application. The composition of propolis is distinguished by its excessively heterogeneous chemical complexity, making it extremely complex to establish a universal standardization of propolis. Thus, a polyinstrumental analysis is needed, comparing chromatographic, spectroscopic, and spectrophotometric analyses. There is a wealth of research, particularly in vitro studies, and articles on the benefits and composition of propolis. The results of these publications indicate that propolis has remarkable properties, and several mechanisms of action have been thoroughly explored. However; it is important to consider some precautions and contraindications related to the use of propolis. Nowadays, propolis is used in a variety of areas, which has led to numerous propolis preparations in various contexts.

Capitolo 1 - Introduzione

1.1 Definizione

Il nome che identifica questo prodotto delle api può essere utilizzato sia al maschile ("il propoli") che al femminile ("la propoli"). La forma maschile proviene dalla combinazione di due parole greche: "prò," che significa "davanti," e "polis," che significa "città." La forma femminile, invece, ha origine dalle parole latine "prò," con il significato di "per," e "polis," derivato dal verbo "polire," che significa "verniciare, lucidare."

La prima interpretazione si riferisce all'utilizzo che le api ne fanno per restringere l'apertura d'ingresso all'alveare, mentre la seconda suggerisce l'impiego per dare la cosiddetta "mano di bianco" alle varie parti dell'arnia, in particolare alle pareti interne delle cellette di ovideposizione. Entrambe le definizioni derivano dalle modalità con cui le api utilizzano la resina; quindi, si può utilizzare indifferentemente una o l'altra di queste descrizioni (Serra G., 2002).

Il termine "propolis" è stato impiegato da Plinio il Vecchio nella sua opera "Naturalis Historia" e dal rinomato filosofo Aristotele. Il termine assume il significato di "difensore della città" o "a difesa della città". Le api, in effetti, sfruttano la propoli per proteggere la loro comunità, rappresentata dall'alveare, da possibili minacce quali malattie e piccoli predatori (Serra G., 2002).

La propoli è un prodotto naturale considerato un derivato vegetale in quanto la sua composizione chimica è simile alla resina botanica originaria. Tuttavia, presenta anche altre sostanze, alcune delle quali possono essere inerti, di produzione animale. La peculiarità di questo composto risiede nella sua natura di miscela, incorporando elementi sia di origine vegetale che animale. Questa

combinazione unica di componenti conferisce alla propoli le sue caratteristiche distintive e le sue molteplici proprietà benefiche.

1.2 Origine e come si ottiene

La propoli era già conosciuta nell'Antico Egitto, e la sua familiarità si estendeva anche ai Romani e ai Greci, come evidenziato dall'etimologia greca del termine. Aristotele, filosofo della natura, fa riferimento alla propoli nelle sue opere. In passato, c'erano due ipotesi sull'origine della propoli. Il naturalista dell'antica Roma, Plinio, sosteneva che la propoli derivasse dalla separazione dei germogli, mentre Dioscoride pensava che provenisse da una particolare resina vegetale, chiamata "storace".

Nel 1814, lo svizzero Huber fu il primo a descrivere con precisione come le api operaie raccogliessero la propoli dalla resina che ricopre le gemme del pioppo. Ancora all'inizio del secolo scorso, il dottor Küstenmacher ipotizzava che la propoli avesse un'origine endogena, derivante dalla prima digestione del polline in una parte dell'intestino delle api, chiamato "stomaco del polline" (Serra G., 2002). Più dettagliatamente, il processo inizierebbe con l'ingestione di una considerevole quantità d'acqua da parte delle api, provocando un notevole rigonfiamento dei granuli di polline fino alla loro rottura. Il plasma rilasciato verrebbe utilizzato dalle api nutrici per alimentare la covata. All'interno dell'involucro dei granuli, si formerebbe una sostanza che Küstenmacher definisce "balsamo" e che rappresenterebbe la "materia prima e l'essenza della propoli". Questo balsamo, rigurgitato dalle api in piccole gocce, verrebbe poi arricchito con granuli di polline non scoppiati, cera e altre sostanze per conferirgli consistenza e facilitarne il trasporto all'interno dell'alveare.

Nel 1927, Rösch dimostrò attraverso osservazioni accurate che la propoli aveva origine direttamente dalle resine raccolte dalle api bottinatrici sui germogli, sulle foglie e sulle cortecce di diverse specie di piante.

Altri ricercatori, tra cui l'americano Philip, hanno delineato l'esistenza di due tipi distinti di propoli: il primo tipo ha origine interna e si forma secondo l'ipotesi precedentemente descritta, coinvolgendo il processo di digestione del polline e la formazione di un "balsamo" all'interno dell'intestino delle api. Il secondo tipo, invece, deriva da sostanze resinose e balsamiche raccolte direttamente dalle api, per poi essere elaborate tramite specifiche ghiandole produttrici di enzimi.

Ma solo nel 1971, grazie alle analisi chimiche di gemme e propoli, fu possibile fornire la prova inconfutabile che la propoli deriva effettivamente dalle gemme di diverse piante. La composizione della propoli e delle resine emesse dalle piante si rivelò straordinariamente simile (Serra G., 2002).

La propoli rappresenta una sostanza resinosa che le api producono in seguito alla raccolta di specifiche resine provenienti dalle gemme e dalle fessure della corteccia di diverse piante. A seconda del luogo, la propoli viene raccolta da diversi alberi e arbusti, con una preferenza per il pioppo e la betulla (presenza anche di faggi e ippocastani) nelle regioni europee e nelle zone climatiche moderate dell'America e dell'Asia. Ci sono segnalazioni che suggeriscono che le api potrebbero raccogliere quantità di propoli anche da salici, ontani, querce, castagni e noccioli, ma al momento non esistono prove chimiche chiare a sostegno di queste affermazioni. In altre regioni climatiche, come in Africa e in Sudamerica, la propoli viene raccolta da fonti vegetali diverse.

Le api arricchiscono la propoli mediante l'apporto principalmente di polline, di secrezioni salivari, prodotte dalle proprie ghiandole ipofaringee, e di secrezioni cerose, generate dalla porzione esocrina corporea.

In Europa la propoli viene raccolta nel periodo tra fine estate e inizio autunno, quando le api si preparano a svernare, durante questo periodo le api formano un cluster, una sorta di aggregato compatto, per mantenere costante la temperatura all'interno dell'alveare e proteggersi dal freddo. Le api consumano il miele

immagazzinato come fonte di energia per mantenere la temperatura e nutrirsi durante l'inverno.

La raccolta avviene durante le ore più calde della giornata, quando i materiali da prelevare sono più malleabili. Questa operazione coinvolge un numero limitato di particolari api, dette bottinatrici, che sfruttano gli organi sensoriali delle antenne per individuare le fonti più interessanti.

La propoli viene bottinata dalle specie di api mellifiche (*Apis mellifica*). L'ape caucasica è la principale ape bottinatrice di propoli, mentre la *ligustica*, la *carnica* e l'ape nera ne bottinano meno. Le api asiatiche non bottinano la propoli (Tringale M., 1990).

Le resine vegetali, che sono raccolte dalle api bottinatrici, attraggono quest'ultime attraverso sostanze volatili quali alcuni oli essenziali contenenti monoterpeni, come l' α -pinene. Le api raccolgono la resina in piccoli frammenti utilizzando le mandibole e, con l'ausilio delle zampe del primo paio, la accumulano nelle cestelle delle zampe posteriori fino a formare una pallottolina, generalmente leggermente più piccola di quella di polline. Quest'operazione viene ripetuta diverse volte fino a quando entrambe le cestelle sono piene. A questo punto, l'ape "raccoltrice di propoli" ritorna all'alveare.

Tanto la raccolta che lo "scarico" del materiale nell'alveare, aiutato da altre api dedite alla lavorazione, richiedono diverse ore di impegno. L'azione di "scarico" viene ripetuta più volte finché la bottinatrice non è completamente ripulita. È interessante notare che le bottinatrici cariche di propoli non possono liberarsi del loro carico da sole, a differenza di quelle cariche di polline; esse necessitano dell'aiuto di altre api. Analisi condotte hanno rivelato che, durante il processo di lavorazione nell'alveare, le api aggiungono una certa quantità di cera al materiale raccolto. Tale aggiunta varia nel tempo, con la propoli più ricca di cera che si trova sul fondo e vicino all'ingresso dell'arnia.

Mediamente è possibile contare su una produzione annuale tra i 150 e i 300 g per alveare. È importante notare che la quantità di propoli prodotta da un alveare è influenzata da diversi fattori, tra cui la temperatura esterna, le condizioni dell'alveare, il tipo di piante presenti nella regione di raccolta e la razza delle api (tra le più propolifere figurano l'*Apis mellifera Var. anatolica* e l'*Apis salariensis*) (Pistoia A., 2017).

Gli apicoltori adottano vari accorgimenti per intensificare la produzione di propoli, tra cui:

- Aumento della spaziatura tra i sostegni dell'alveare;
- Introduzione di assicelle di legno non piallate;
- Creazione di fenditure sulle pareti interne dell'alveare con una larghezza di 3-4 mm;
- Introduzione di una griglia supplementare in plastica o in metallo inossidabile.

1.3 Ruolo ecologico

Le api utilizzano la propoli in ogni parte dell'alveare, sfruttandone sia le particolari caratteristiche fisico-chimiche che la sua capacità di impedire lo sviluppo di numerosi germi. Le api sfruttano la propoli, grazie alla sua consistenza gommo-resinosa, come materiale da costruzione per rivestire le pareti interne delle celle. In combinazione con la cera, la propoli viene impiegata come isolante e rivestimento protettivo, conferendole il ruolo di barriera fisica di difesa. Inoltre, la propoli viene impiegata per sigillare le piccole fessure inutilizzate dell'alveare, contribuendo così ai lavori di rifinitura, che comprendono operazioni come "stuccare, rivestire ed otturare" (Pistoia A., 2017).

Questa materia prima di grande valore viene sfruttata anche per la sua capacità di "disinfettare" l'alveare. Si fa uso delle proprietà antibatteriche e

antimicrobiche della propoli, riconosciute nell'uso tradizionale, per gestire potenziali infezioni nell'alveare. L'arnia tende a mantenere un ambiente privo di proliferazione batterica.

La propoli è nota anche per la sua funzione di "conservante" nei confronti di piccoli predatori o invasori che cercano di saccheggiare il miele dall'alveare. Dopo aver punto tali invasori, le api li rivestono con propoli nel tentativo di impedire la loro decomposizione. I corpi di questi piccoli animali ricoperti abbondantemente di tale sostanza essicano senza che avvenga alcun fenomeno putrefattivo che possa compromettere la vita stessa delle api e la perfetta conservazione delle provviste accumulate per i bisogni della comunità. Si tratta sorprendentemente di un autentico processo di mummificazione. La propoli sembra essere in grado di controllare questo processo grazie alle sue proprietà di inibizione nei confronti di batteri e virus, una caratteristica che trova riscontro nella lunga tradizione e nell'uso popolare (Pistoia A., 2017). La produzione di propoli e il rivestimento delle superfici interne dell'alveare contribuiscono a rendere gli alveari tra gli ambienti più sterili in natura.

1.4 Estrazione della propoli

La propoli può essere raccolta dall'apicoltore mediante due metodi distinti. Nel primo metodo, si asporta ciò che le api depositano spontaneamente nell'alveare. Nel secondo metodo, invece, la propoli viene raccolta su apposite strutture che stimolano la sua produzione.

Con il primo metodo, che non richiede attrezzature specifiche né investimenti particolari, l'apicoltore raccoglie la propoli raschiando con una spatola o una leva da apicoltore quella depositata spontaneamente dalle api nell'arnia (lungo gli spigoli, sulle fessure, nei punti di appoggio dei telaini, tra il nido e il coprifavo) e sulle traverse superiori dei telaini. La quantità di propoli ottenuta è limitata (50-100 grammi all'anno per alveare) e presenta diverse impurità

come pezzi di cera, frammenti di legno, parti di api, ecc. Si presenta in scaglie di piccole dimensioni e ha un valore commerciale limitato (Pistoia A., 2017).

Al contrario con il secondo metodo, si adotta una tecnica specializzata per stimolare le api a produrre propoli e a depositarla su reti o griglie, semplificandone il distacco. La raccolta avviene in colonie che hanno dimostrato una buona propensione alla propolizzazione. Si inserisce nell'arnia, al posto del coprifavo, una cornice in legno delle stesse dimensioni del coprifavo, alta circa 3-4 cm, su cui è stata tesa una rete o una griglia con maglie di 2-3 mm. Le api, stimolate a chiudere la parte superiore dell'arnia, propolizzano i fori della rete. Una volta che gli spazi tra le maglie sono riempiti di propoli, il supporto di deposito viene estratto dall'alveare (Pistoia A., 2017).

Per rendere la propoli fragile per la raccolta, la rete viene posta per qualche ora in frigorifero o, meglio ancora, in un congelatore. Successivamente, la raccolta avviene raschiando, se è stata impiegata una rete metallica, oppure flettendo la rete in più direzioni, se è stata utilizzata una rete in materiale plastico. La propoli, a basse temperature, diventa dura e friabile, distaccandosi in piccole scaglie. Il prodotto ottenuto con questo metodo è puro, privo di corpi estranei, e di conseguenza, ha un valore commerciale superiore rispetto a quello ottenuto con il primo metodo. La quantità raccolta nei periodi favorevoli è di circa 100 grammi al mese per colonia.

Esistono altre metodologie volte a favorire l'accumulo di propoli, tutte basate sulla creazione artificiale di spazi vuoti nell'alveare che vengono successivamente "chiusi" dalle api. Tuttavia, queste tecniche tendono a consentire produzioni nettamente inferiori rispetto al sopracitato secondo metodo e richiedono una maggiore manodopera per l'asporto. Una delle tecniche abbastanza utilizzate prevede la collocazione, al posto del coprifavo, di assicelle che non combaciano bene; una volta che le fessure sono state sigillate con la propoli, la sua asportazione viene effettuata mediante

raschiatura.

Grazie alle sue pronunciate proprietà antimicrobiche, la propoli dimostra una notevole capacità di preservarsi nel tempo senza subire alterazioni significative. La sua conservazione non richiede particolari accorgimenti, ma è sufficiente utilizzare contenitori opachi posizionati lontano dalle fonti di calore, quindi in luoghi bui. Per agevolare il dosaggio e la preparazione di diversi composti, è consigliabile conservarla, se non in frigorifero, almeno in un luogo molto fresco e asciutto. Questo aiuta a prevenire la compattazione del prodotto. Nel caso della propoli ottenuta per raschiamento, è opportuno rimuovere le impurità più grosse prima di conservarla in contenitori separati (Tringale M., 1990).

Il prodotto ottenuto, noto come propoli grezza, viene inviato alle successive fasi di lavorazione. Dopo lo stoccaggio in botti o tank refrigerati, viene sottoposto a un'analisi per valutarne la composizione. Se risulta particolarmente ricca di cere, si procede con un lavaggio preliminare in acqua calda e diverse soluzioni, seguito da un processo di essiccazione. In caso contrario, la propoli viene immersa direttamente in una soluzione contenente il 95% di alcol etilico (v/v). L'ultimo passo comporta la filtrazione del prodotto per rimuovere impurità e, eventualmente, cere residue. Da questo processo di lavorazione derivano tre prodotti distinti: la tintura, il balsamo e l'estratto etanolic (Pistoia A., 2017).

In tempi recenti, sono stati sviluppati nuovi e più efficienti sistemi di estrazione delle componenti organiche da matrici solide, impiegando anche tecniche ad ultrasuoni.

1.5 Tipologie di propoli

La propoli può essere catalogata in diverse tipologie in base alla fonte botanica e alla zona geografica di provenienza. Spesso, queste tipologie sono meglio identificate commercialmente con la denominazione inglese. Alcune di queste includono:

1. **Propolis (Propoli di Pioppo):** proveniente da alberi di pioppo, è una delle tipologie più comuni di propoli;
2. **Beech Propolis (Propoli di Faggio):** ottenuta da alberi di faggio, può presentare caratteristiche distintive in base alla specifica specie di faggio;
3. **Green Propolis (Propoli Verde):** comunemente trovata in Brasile, è nota per il suo colore verde e le sue proprietà benefiche. Le api elaborano la green propolis brasiliana a partire da sostanze presenti principalmente nelle gemme, nei primordi fogliari e nelle giovani foglie dell'arbusto *Baccharis dracunculifolia*, che fa parte della famiglia delle composite. La green propolis brasiliana è ampiamente consumata a livello locale, ma trova mercati di esportazione principalmente in Cina e Giappone dal Brasile. La marcata variazione nella composizione chimica della green propolis suggerisce che, oltre a *B. dracunculifolia*, altre specie del genere *Baccharis* e fonti vegetali come *Araucaria heterophylla*, *Clusia major*, *Clusia minor*, *Araucaria angustifolia*, *Eucalyptus citriodora* contribuiscono alla sua formazione (Sforcin J.M., 2007);
4. **Red Propolis (Propoli Rossa):** anche questa tipologia è spesso trovata in Brasile, elaborata dalla leguminosa rampicante *Dalbergia ecastophyllum* ed è prodotta principalmente nelle regioni tropicali. Ha un colore rosso scuro e può avere proprietà uniche;
5. **Black Propolis (Propoli Nera):** ottenuta da diverse fonti botaniche, può variare in colore dal marrone scuro al nero. Può essere raccolta in diverse regioni del mondo;
6. **Mediterranean Propolis (Propoli Mediterranea):** proveniente dalla regione del Mediterraneo, può derivare da una varietà di piante presenti in quest'area;
7. **Temperate Propolis (Propoli Temperata):** raccolta in aree temperate, questa tipologia può derivare da una varietà di alberi comuni in tali zone;
8. **Propoli rossa cubana e venezuelana:** dall'essudato dei fiori di diverse

specie del genere tropicale *Clusia*. In Venezuela e in altre regioni tropicali del Sud America, le api indigene raccolgono sostanze resinose dalle piante, le mescolano con cera e terriccio dando vita a quella che è conosciuta come propoli rossa.

È importante notare che le denominazioni esatte possono variare e che le caratteristiche della propoli dipendono anche da molti altri fattori, come le condizioni climatiche e la flora circostante.

Effettivamente, è possibile distinguere due "famiglie" principali di propoli in base alla loro fonte principale. Nelle regioni a clima temperato, come Asia, Europa e Nord America, la fonte dominante di propoli sono le gemme di pioppo nero. Questo tipo di propoli si caratterizza per la predominanza di flavonoidi e la presenza di acidi ed esteri fenolici, inclusi gli esteri dell'acido caffeico, che rappresentano componenti significativi di questa varietà di propoli (Ricciardelli D.G., 1979).

Nel caso del Brasile, la corteccia della *Baccharis dracunculifolia* è alla base della cosiddetta "propoli verde". Questo tipo di propoli è caratterizzato da una predominanza di acidi fenolici, specialmente di derivati prenilati dell'acido *p*-cumarico, e dell'acetofenone, nonché diterpeni e lignani. La composizione di queste due varianti di propoli è diversa, riflettendo le caratteristiche distintive delle rispettive fonti vegetali (Ricciardelli D.G., 1979).

La propoli prodotta dalle api tropicali o *stingless* (senza pungiglione) e quella della *Mellifera* europea, sebbene differiscano nella composizione chimica, manifestano capacità *in vitro* simili. Questo conferma che, da diverse risorse botaniche ed entomologiche, viene ottenuto un prodotto chimicamente differente che, nonostante ciò, presenta proprietà biologiche documentate simili. Ciò è particolarmente rilevante quando si considerano concentrazioni minime negli estratti, nei derivati e nei componenti isolati (Bankova V.S. et al., 2000).

Capitolo 2 - Composizione chimica della propoli

2.1 Proprietà organolettiche, fisiche e chimiche

La propoli è un prodotto naturale che si manifesta come una sostanza resinosa e appiccicosa, caratterizzata da una colorazione che varia dal verde al giallo-bruno e, in alcuni tipi, al rosso. Possiede un gradevole odore aromatico, che ricorda lontanamente la vaniglia e la cannella, e un sapore leggermente amaro ed acre, che può arrivare ad essere quasi dolce. La sua consistenza varia in base alla temperatura: è solida e friabile quando è fredda, ma diventa duttile appena viene manipolata. La sua flessibilità aumenta progressivamente all'avvicinarsi della temperatura ai 30 °C. A temperature più elevate, diventa appiccicosa e viscosa; infatti, si scioglie già a 65-70 °C. Se viene riscaldata a bagnomaria, si separa in due componenti distinte: una cerosa e malleabile, e un'altra viscosa che si deposita sul fondo del contenitore (Siheri W. et al., 2017).

La densità della propoli si attesta tra 1.11 e 1.14, mentre il suo punto di fusione oscilla tra 80 e 105°C. Questo composto è poco solubile in acqua, anche quando sottoposto a cottura. Al contrario, mostra una buona solubilità in alcol etilico. Inoltre, la propoli presenta un'elevata solubilità in miscele di diverse soluzioni, come etanolo-cloroformio ed etanolo-toluene (Siheri W. et al., 1980).

2.2 Composizione della propoli

La composizione della propoli varia a seconda del periodo di raccolta, dell'ambiente circostante, delle specie vegetali presenti nei dintorni degli apiari, delle condizioni climatiche, della specie di api coinvolte nella raccolta e di altri elementi. Questa considerevole diversità presenta notevoli sfide analitiche, rendendo estremamente complesso stabilire una standardizzazione universale della propoli. La propoli si distingue per la sua straordinaria complessità chimica estremamente eterogenea, comprendendo oltre 300 diversi costituenti

biochimici.

Generalmente la propoli prodotta dall'ape da miele italiana si compone di: circa il 50% dei componenti della propoli consiste in resine vegetali, mentre il 30% è costituito da cere. Un ulteriore 10% è rappresentato dall'olio essenziale, mentre il 5% della composizione, che sono amminoacidi e peptidi, è dato dai residui di polline (il quale talvolta può causare reazioni di sensibilizzazione e comportare il rischio di allergie) e organici dell'insetto. La restante percentuale, che si aggira tra il 3% e l'1%, comprende zuccheri, vitamine, minerali e metaboliti secondari vegetali, tra cui i polifenoli. Per quanto riguarda la frazione polifenolica, essa è principalmente composta da flavonoidi, che emergono come la sottoclasse più rilevante all'interno della propoli, seguiti da acidi ed esteri fenolici, aldeidi fenoliche, chetoni, e altri composti simili (Marcucci M.C.,1995).

In alcune circostanze, le api incorporano terra nella miscela di propoli per migliorarne le caratteristiche fisiche e plastiche. Il prodotto risultante, chiamato *geopropolis*, rappresenta una frazione di scarto e contribuisce a incrementare la percentuale di residui peptidici e cere. Durante la fase di purificazione degli estratti di propoli, questa componente viene rimossa. L'unica funzione ecologica della cera d'api sembra riconducibile al riconoscimento olfattivo delle api, ma la sua funzione biologica sembra essere scarsamente valutata a causa della limitata ricerca in materia. Tuttavia, si ipotizza che la cera possa svolgere un ruolo nella conservazione e stabilizzazione dei composti fenolici, prevenendo la loro polimerizzazione (Marcucci M.C.,1995). La cera d'api è composta da una miscela di esteri e catene idrocarburiche. Questa miscela include esteri di acidi con lunghezze di catena di 16 e 28 unità carboniose, alcoli con lunghezze di catena di 30 e 32 unità carboniose, oltre a idrocarburi con oltre 31 unità carboniose (Marcucci M.C.,1995).

Gli oligoelementi contenuti nella propoli sono principalmente: alluminio, calcio, cromo, cobalto, rame, stagno, ferro, manganese, nickel, piombo, silicio,

titanio, vanadio, zinco, cadmio.

Le funzioni benefiche dei minerali contenuti nella propoli sono principalmente le seguenti:

- **Calcio - Salute delle ossa e dei denti:** il calcio, il minerale più presente nel corpo umano, contribuisce al rafforzamento delle ossa, rendendole più dense, e favorisce la salute dei denti, contribuendo a mantenerli sani e forti;
- **Rame - Processi metabolici:** il rame è indispensabile per il corretto funzionamento degli organi e dei processi metabolici. Gioca un ruolo cruciale nella salute delle ossa e dei tessuti connettivi, nella regolazione del battito cardiaco, nella formazione dei globuli rossi e nella gestione del colesterolo;
- **Ferro - Produzione di energia:** il ferro è essenziale per il trasporto di ossigeno nel corpo. La presenza di ferro è fondamentale poiché l'ossigeno è coinvolto nella produzione di energia necessaria per sostenere i processi vitali e le funzioni corporee;
- **Magnesio - Salute di molte funzioni biologiche:** il magnesio è un minerale di importanza fondamentale per il benessere fisico. Contribuisce alla produzione di energia cellulare, trasmette impulsi nervosi, stimola le funzioni muscolari e metaboliche, e rinforza le ossa e lo smalto dei denti;
- **Zinco - Sistema immunitario:** lo zinco svolge un ruolo chiave nel mantenere forte il sistema immunitario e nella lotta contro infezioni e lesioni. Anche una piccola quantità di questo minerale è sufficiente per soddisfare il fabbisogno giornaliero necessario.

La propoli contiene diverse vitamine, tra cui:

- **Vitamina B1 - Tiamina:** la Tiamina, appartenente al gruppo B, contribuisce alla conversione dei carboidrati in glucosio, fornendo energia all'organismo. È conosciuta anche come "vitamina anti-stress"

poiché rafforza il sistema immunitario e migliora la capacità di affrontare situazioni stressanti;

- **Vitamina B2 - Riboflavina:** la Riboflavina funge da antiossidante, contrastando i radicali liberi. Riveste un ruolo significativo nella salute degli occhi;
- **Vitamina B6 - Piridossina:** supporta le funzioni adrenaliniche, contribuisce al mantenimento del sistema nervoso in salute ed è essenziale per i processi metabolici;
- **Vitamina C - Acido ascorbico:** necessaria per lo sviluppo e la riparazione dei tessuti corporei, la vitamina C collabora alla formazione del collagene, all'assorbimento del ferro, alla cicatrizzazione delle ferite e al mantenimento di cartilagine, denti e ossa;
- **Vitamina E - Tocoferolo:** potente antiossidante, riduce l'azione dei radicali liberi e contrasta processi infiammatori e d'invecchiamento;
- **Vitamina P - Bioflavonoidi:** anche se non sono propriamente una vitamina, i bioflavonoidi, noti come vitamina P, sono sostanze idrosolubili colorate (Koo H. et al., 2002). Agiscono come antiossidanti, prevenendo l'ossidazione da parte degli enzimi contenenti rame, della vitamina C e dell'adrenalina. Inoltre, rafforzano la permeabilità dei capillari.

I composti fenolici sono invece molecole appartenenti ad una classe molto eterogenea, caratterizzate dalla presenza di almeno un anello aromatico nella loro struttura. I composti più semplici sono gli acidi fenolici. Quelli riscontrati nella propoli sono principalmente acido benzoico, ferulico, cinnamico, cumarico, salicilico, protocatechico, gallico e gentsico che mostrano un'azione battericida e batteriostatica. Inoltre, l'acido caffeico e lo xanterolo manifestano un'azione antifungina.

Un'altra classe di composti fenolici è quella dei flavonoidi, pigmenti vegetali

abbondantemente presenti nel mondo vegetale, dove svolgono spesso un'azione protettiva contro le avversità parassitarie. Quando assunti con la dieta, costituiscono dei potenti antiossidanti, garantiscono il buon funzionamento del fegato, fortificano il sistema immunitario e capillare (Koo H. et al., 2002). Contrastano inoltre, come già detto, l'azione dannosa dei radicali liberi. Nella propoli hanno un'azione antibatterica e fungicida. È da sottolineare che le api apportano anche delle modifiche strutturali ai flavonoidi di origine vegetale, ad esempio eliminando gli zuccheri presenti nel composto organico mediante gli enzimi prodotti dalle loro ghiandole salivari (Koo H. et al., 2000).

I flavonoidi identificati nella propoli sono diversi e appartengono a varie sottoclassi.

Flavoni: crisina, tetrocrisina, acacetina, apigenina, betuletolo, galangina, ramnocitrina, isalpinina, ermanina, campferolo, 3,5-diidrossi-1,4-dimetossiflavone (Koo H. et al., 2002). Componenti distintivi della propoli, come crisina, apigenina e galangina, sono presenti praticamente in ogni estratto e preparazione;

Flavonoli: ramnetina, isoramnetina, quercetina, 3,3'-dimetossi-quercetina, 3,1-dimetossi-quercetina, 3,1,3'-dimetossi-quercetina, ramnazina. La quercetina e i suoi derivati sono i componenti più importanti di questa sottoclasse;

Flavanoni: pinocembrina, pinostrobina, 5-idrossi-1,4'-dimetossiflavone, sakuranetina, isosakuranetina. La pinocembrina è un componente caratteristico e ubiquitario nelle diverse propoli.

Tra i composti non flavonoidici più rilevanti della propoli, va menzionato l'estere feniletilico dell'acido caffeico (CAPE), che rappresenta un componente caratteristico.

2.3 Proprietà benefiche

La nota e conosciuta Banca dati scientifica PubMed (il sito della U.S. National

Library of Medicine e del National Institutes of Health, in cui è possibile effettuare ricerche su pubblicazioni scientifiche) riporta un numero elevato di studi riguardanti la propoli e molte reviews (analisi scientifiche sistematiche), che raccolgono in particolare gli studi *in vitro* (studi scientifici effettuati esclusivamente in laboratorio e non sulle persone).

Dai risultati di queste pubblicazioni emerge che la propoli possiede proprietà molto interessanti e diversi meccanismi d'azione che sono stati ampiamente esplorati. Molti preparati di propoli hanno dimostrato, *in vitro*, di avere una certa attività antiossidante, antibatterica e di controllo dei radicali liberi. Ciò suggerisce che la propoli potrebbe essere coinvolta in processi che contrastano lo stress ossidativo e contribuiscono alla difesa contro agenti patogeni.

Diversi prodotti a base di propoli e alcuni flavonoidi isolati hanno dimostrato azioni antiossidanti, antibatteriche/batteriostatiche, antivirali, antifungine, cicatrizzanti, analgesiche, antiulcera, radical scavenger (tradotto “spazzino radicale”), antinfiammatorie e immunomodulanti.

I dati riportati in letteratura hanno finora evidenziato come le proprietà antimicrobiche della propoli siano correlate principalmente ai flavonoidi: pinocembrina, galangina, pinobanksina (Bankova V.S. et al., 2000).

La pinocembrina ha dimostrato non solo proprietà antimicrobiche, ma anche proprietà antifungine. La sua capacità di agire contro funghi patogeni è stata oggetto di studi e ricerche. Inoltre, è interessante notare che gli esteri dell'acido cumarico e caffeico, oltre agli acidi p-cumarico e diterpenici, sono stati identificati come componenti attivi della propoli. Gli esteri dell'acido cumarico e caffeico possono contribuire alle proprietà antimicrobiche e antiossidanti della propoli, mentre gli acidi p-cumarico e diterpenici possono avere attività antibatterica e citotossica.

L'acido caffeico feniletilestere (CAPE) è uno degli elementi attivi presenti nella propoli ed è noto per le sue proprietà citotossiche, specialmente nei confronti di

alcune cellule tumorali. Numerosi studi scientifici hanno evidenziato gli effetti del CAPE su diverse linee cellulari tumorali, e ci sono elementi che suggeriscono la sua attività antitumorale (Lee Y.J. et al., 2000).

L'attività antibatterica della propoli è la caratteristica principale di questo prodotto apistico, essa combatte diversi batteri, tra cui *Helicobacter pylori*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Pseudomonas aeruginosa* e altri. L'attività verso questi microrganismi risulta batteriostatica a basse concentrazioni, ma battericida a concentrazioni più elevate (Cushnie T.P.T. e Lamb A.J., 2007).

L'azione della propoli sembra manifestarsi a diversi livelli e attraverso molteplici meccanismi d'azione, tra cui: l'inibizione della divisione cellulare, il disturbo della membrana citoplasmatica e della parete cellulare, l'inibizione della sintesi proteica e della RNA polimerasi, e l'inibizione enzimatica.

L'attività antimicrobica della quercetina è risultata riconducibile a un meccanismo di inibizione della DNA girasi in *Escherichia Coli*, che aumenta la permeabilità della membrana e ne riduce il potenziale. Nel caso della galangina, è stata osservata la provocazione di perdite massive di potassio nelle cellule di *S. aureus*, suggerendo un effetto diretto sulla membrana citoplasmatica o un effetto indiretto causato dall'indebolimento della parete cellulare batterica e dalla conseguente lisi osmotica (Cushnie T.P.T. e Lamb A.J., 2007).

La propoli dimostra un'azione particolarmente efficace contro i batteri Gram-positivi che colonizzano il cavo orofaringeo, come *Streptococcus* e *Staphylococcus spp.*. Ad esempio, limita l'azione patogena di *S. aureus* interferendo con alcuni fattori di virulenza, come l'attività coagulastica e lipasica o la produzione di biofilm batterico.

Le concentrazioni battericide degli estratti variano a seconda delle diverse

preparazioni, e risultati ottimali evidenziano attività anche a concentrazioni inferiori a 250 mg/L, un dato che sottolinea un'evidente sinergia tra i costituenti della propoli. In particolare, CAPE e galangina sono risultati essere i componenti più attivi contro i batteri Gram-positivi, mentre pinocembrina e quercetina hanno dimostrato maggiore attività contro i batteri Gram-negativi. Le concentrazioni battericide sono comprese tra 100 e 500 mg/L, a seconda dei ceppi testati (Sforcin J.M., 2007).

Uno studio condotto da Tosi B. et al. (1996) ha evidenziato come la scelta del solvente impiegato per l'estrazione della propoli possa influenzare il grado di attività antimicrobica. In particolare, le preparazioni oleose presentano un ampio spettro di attività antimicrobiche; le soluzioni a base di glicerolo mostrano scarso potere inibente nei confronti dei batteri Gram positivi, mentre le soluzioni a base di etanolo e propilene presentano una buona efficacia contro i lieviti (Tosi B. et al., 1996).

Il meccanismo responsabile dell'attività antivirale della propoli, invece, non è stato ancora ben definito: si ritiene che l'interazione della propoli con la membrana cellulare possa bloccare la penetrazione delle particelle virali nella cellula ospite e/o indurre cambiamenti a livello intracellulare che, a loro volta, alterano il ciclo di replicazione virale (Sforcin J.M., 2007).

La propoli, similmente ad altre sostanze naturali come l'echinacea, l'aglio, lo zenzero e l'origano, può essere considerata una sostanza antibiotica naturale. La sua azione antibiotica è mirata verso la causa del sintomo che si vuole trattare. Pertanto, la sua azione è diretta, evitando alcuni sgradevoli effetti collaterali associati al consumo di antibiotici non naturali, come la disbiosi intestinale.

Tuttavia, è importante sottolineare che l'uso della propoli non dovrebbe sostituire un antibiotico quando è necessario, ma potrebbe agire in sinergia con le terapie convenzionali

È interessante notare che alcuni studi hanno evidenziato un notevole effetto sinergico nell'azione antibatterica quando la propoli è combinata con determinati antibiotici. Questo fenomeno può avere implicazioni importanti nel campo della terapia antimicrobica. In particolare, l'effetto sinergico è stato osservato in combinazione con gli antibiotici streptomina e cloxacillina, e un lieve effetto sinergico è stato notato anche con gli antibiotici cloramfenicolo, cefradina e poliximina B, utilizzando come ceppo di test *Staphylococcus aureus* (Krol W. et al., 1993).

Recentemente, diversi autori hanno messo in evidenza l'azione sinergica della propoli con diversi antibiotici nei confronti di *S. aureus*, impiegando molecole in grado di interferire con la sintesi proteica, quali clindamicina, tetraciclina e gentamicina. La sinergia tra propoli e antibiotici è stata osservata anche nei confronti di *Helicobacter pylori* e *Salmonella typhi* (Orsi R.O. et al., 2006; Nostro A. et al., 2006). Inoltre, l'ampio spettro d'azione ha suggerito l'impiego della propoli in formulazioni dedicate alla cura delle infiammazioni del cavo orale, sinusiti, periodontiti, faringo-tracheiti e nelle patologie delle vie respiratorie e nelle ulcerazioni cutanee.

Oltre all'attività antimicrobica, alcuni studi hanno evidenziato un'azione antinfiammatoria della propoli, anche se il meccanismo d'azione rimane ancora sconosciuto. Tra le componenti sottoposte a sperimentazione, solo il CAPE e la galangina hanno dimostrato la loro attività antinfiammatoria. Il CAPE emerge come la molecola più ricca di attività antinfiammatoria, e il suo meccanismo d'azione sembra consistere, nell'inibire l'attivazione del fattore di trascrizione NF- κ B (Biagi M. et al., 2009).

La propoli ha dimostrato di avere effetti immunostimolatori e immunomodulatori *in vitro*, specialmente sulle cellule del sistema immunitario, come i macrofagi. Inoltre, studi condotti su animali, come topi, hanno evidenziato che la propoli può avere effetti positivi sull'incremento del numero di linfociti CD4 e CD8T, indicando un'attività immunostimolante anche *in vivo*

(Biagi M. et al., 2009). I polifenoli e l'olio essenziale sembrano essere i costituenti più attivi. In una recensione dedicata alle proprietà immunostimolanti della propoli (Sforcin J.M., 2007), è stato esaminato l'effetto su produzione di anticorpi e mediatori cellulari innati ed adattativi del sistema immunitario. Gli effetti immunostimolatori si riferiscono alla capacità di stimolare il sistema immunitario, rendendo le cellule immunitarie più attive e più efficienti nella risposta alle infezioni e alle malattie. D'altra parte, l'immunomodulazione riguarda la capacità di modulare la risposta immunitaria in modo più generale, contribuendo a mantenere un equilibrio nel sistema immunitario.

Diversi studi hanno suggerito gli effetti epatoprotettivi della propoli in condizioni di patologie epatiche acute indotte da sostanze tossiche, come il tetracloruro di carbonio nei ratti e il paracetamolo nei topi (Grover W.L. e González J.S., 1999). Il glutathione (GSH) è una molecola chiave coinvolta nella difesa cellulare contro lo stress ossidativo. È un potente antiossidante presente nelle cellule del fegato e svolge un ruolo cruciale nel mantenimento dell'omeostasi redox cellulare. In situazioni di danneggiamento epatico indotto da sostanze chimiche, la concentrazione di GSH può diminuire, contribuendo al danno cellulare. In particolare, è stata osservata la capacità della propoli di rallentare la degradazione del GSH indotta dal paracetamolo nei topi, prevenendo così danni cellulari e contribuendo alla protezione del fegato (Isla M.I. et al., 2005).

La propoli ha dimostrato di avere attività come "scavenger" nei confronti delle forme radicaliche dell'ossigeno. In altre parole, agisce come un agente antiossidante, aiutando a neutralizzare i radicali liberi che possono essere dannosi per le cellule e i tessuti del corpo (Pascual C. et al., 1994).

Gli studi hanno confermato che la propoli è in grado di inibire la formazione dell'anione superossido. Questo è particolarmente rilevante perché l'anione

superossido è una delle specie radicaliche dell'ossigeno coinvolte nel processo di stress ossidativo. Lo stress ossidativo, causato da un eccesso di radicali liberi nel corpo, è associato a diverse condizioni patologiche e all'invecchiamento. Inoltre, l'osservazione che la propoli può inibire la formazione dell'anione superossido durante l'auto-ossidazione del β -mercaptoetanolo è un esempio di come la propoli possa interagire con specifiche reazioni chimiche e processi di formazione di radicali liberi nel contesto cellulare (Salim A.S., 1993).

La propoli ha mostrato un effetto rigenerativo nei riguardi dei tessuti biologici danneggiati (Osmany C. et al., 2007), un'attività antineoplastica verso numerose cellule tumorali ed è risultata in grado di inibire la divisione cellulare e la sintesi proteica (Takaisi-Kikuni N. e Schilcher N., 1994). La propoli ha dimostrato di promuovere la rigenerazione tissutale in diversi contesti. Questo può includere la capacità di accelerare la guarigione delle ferite e la riparazione di tessuti danneggiati. Gli effetti rigenerativi possono essere attribuiti alle sue proprietà antiossidanti, antinfiammatorie e alla capacità di promuovere la crescita cellulare (Martini S. et al., 2009).

La propoli ha rivelato un certo grado di attività antineoplastica, il che significa che può ostacolare la crescita e la diffusione di cellule tumorali. Questo è particolarmente rilevante in studi *in vitro*, dove la propoli è stata testata su diverse linee cellulari tumorali. L'effetto antineoplastico può coinvolgere l'inibizione della divisione cellulare (proliferazione) e la modulazione di processi cellulari chiave, coinvolti nella formazione di tumori. La propoli è stata segnalata anche per la sua capacità di inibire la divisione cellulare e la sintesi proteica, processi fondamentali per la crescita e la sopravvivenza delle cellule. Questo può essere uno dei meccanismi attraverso cui la propoli esercita i suoi effetti antineoplastici (Lee Y.J. et al., 2000).

L'acido caffeico feniletilestere (CAPE) è stato individuato come uno dei composti presenti nella propoli con notevoli proprietà chemioprotettive e

antitumorali. Studi hanno dimostrato che il CAPE può esercitare un'azione citotossica nei confronti delle cellule tumorali e virali, ma senza influenzare in modo significativo le cellule sane. Il CAPE è stato suggerito come induttore dell'apoptosi, un processo di morte cellulare programmata, nelle cellule tumorali e potrebbe contribuire alla riduzione della crescita tumorale (Lee Y.J. et al., 2000). Questo lo rende un possibile candidato per lo sviluppo di terapie anticancro mirate. Tuttavia, il meccanismo esatto di azione della propoli e del CAPE nei confronti delle cellule tumorali non è ancora completamente compreso e richiede ulteriori studi sperimentali.

Secondo uno studio del 2002, riportato sul *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, la propoli ha un effetto curativo sulle scottature di secondo grado paragonabile alla *Sulfadiazina argantica*, un farmaco impiegato clinicamente nel trattamento delle ustioni (Gregory S.R. et al., 2002).

Studi moderni dimostrano che la propoli è un efficace rimedio contro problemi stomatologici, come la gengivite e la periodontite, che riduce l'incidenza di carie e limita la formazione di placca batterica. L'azione antimicrobica dei flavonoidi inibisce la proliferazione di un enzima, detto glicosil transferasi, che sembra essere la causa principale delle carie dentarie (Wieckiewicz W. et al., 2013).

Secondo uno studio, condotto su persone che soffrono di ulcere ricorrenti del cavo orale, l'ingestione quotidiana di 500 mg di propoli è in grado di ridurre significativamente la comparsa di stomatiti. Per effettuare un trattamento locale si possono utilizzare gocce di tintura madre direttamente sulla zona affetta più volte al giorno oppure fare dei risciacqui con un collutorio a base di propoli (Samet N. et al., 2007).

L'acido caffeico, uno dei componenti della propoli, è stato oggetto di alcune ricerche che suggeriscono la sua efficacia nel trattamento delle otiti medie e delle infezioni al cavo auricolare. La propoli, grazie alle sue proprietà antiinfiammatorie, potrebbe offrire un approccio naturale per alleviare

l'infiammazione e contribuire alla guarigione in tali condizioni (Jo S. et al., 2013).

La propoli ha dimostrato di avere un'azione vasoprotettiva, contribuendo a proteggere i capillari. I flavonoidi presenti nella propoli possono migliorare la permeabilità e la resistenza dei capillari. Inoltre, grazie ai componenti della propoli, come la quercetina, la rutina, l'apigenina e la vitamina C, possono contribuire a migliorare la micro-circolazione (Zedan H. et al., 2009).

La propoli è stata dimostrata essere efficace nel trattamento dell'herpes labiale (*Herpes simplex*) e dell'herpes genitale. Secondo uno studio pubblicato su *Phytomedicine*, la propoli, grazie al suo contenuto di flavonoidi, risulta essere più efficace rispetto ai normali farmaci nel trattamento dell'herpes genitale. Il protocollo di trattamento prevede l'applicazione di un unguento specifico a base di propoli nell'area affetta per almeno 10 giorni (Vynograd N. et al., 2000).

Tuttavia, è importante notare che la ricerca e lo sviluppo di farmaci a base di propoli sono ancora in una fase preliminare, e ulteriori studi e sperimentazioni sono necessari per determinarne efficacia e sicurezza.

La propoli mostra proprietà meno conosciute ma altrettanto significative, tra cui:

- **Azione stimolante del timo:** sembra esercitare un effetto stimolante sulla ghiandola del timo, posizionata nel torace di fronte alla trachea, soprattutto in periodi della vita in cui questa ghiandola è particolarmente attiva, come durante la pubertà;
- **Supporto al metabolismo:** la propoli potrebbe fornire un supporto al metabolismo, specialmente in condizioni di disordini lipidici, ematici e problemi cardiovascolari. Tuttavia, è importante sottolineare che la propoli non agisce come un prodotto miracoloso e il suo impatto benefico richiede una guida e un supporto da parte di una dieta equilibrata e uno stile di vita attivo;
- **Miglioramento delle condizioni fisiche e psichiche negli anziani:** in soggetti anziani che integrano regolarmente la propoli, si è osservato un

miglioramento delle condizioni sia fisiche che psichiche. Tuttavia, è essenziale notare che al momento mancano studi scientifici che supportino questa teoria, e quindi essa rimane non convalidata dalla comunità scientifica.

Tuttavia, è importante notare che gli studi *in vitro* forniscono informazioni preziose sulle potenziali proprietà della propoli, ma l'efficacia e gli effetti nel contesto umano possono variare. Ulteriori ricerche, comprese quelle condotte su soggetti umani, sono necessarie per confermare e approfondire la comprensione dei benefici della propoli per la salute.

2.4 Effetti indesiderati

È corretto sottolineare che, in generale, la propoli è considerata sicura per la maggior parte delle persone, ma ci sono alcune precauzioni e controindicazioni da tenere in considerazione. Da un lato, l'uso della propoli è sconsigliato nei bambini di età inferiore a 3 anni, quindi meglio non utilizzare prodotti a base di propoli in gravidanza, durante l'allattamento e nei bambini molto piccoli. Questa precauzione è dovuta alla possibilità di reazioni allergiche e al rischio di soffocamento, in quanto la propoli può essere appiccicosa e aderire alle vie respiratorie. Dall'altro lato, il consumo di propoli è fortemente sconsigliato per le persone con allergie alle api, alle loro punture o al miele. Poiché la propoli è prodotta dalle api, potrebbe contenere tracce di polline, cera, frammenti delle api stesse o altri allergeni. Le persone allergiche a queste sostanze potrebbero sviluppare reazioni avverse, che sono abbastanza frequenti e i sintomi includono dermatite e asma (Burdock G.A., 1998).

Sono responsabili di queste reazioni alcuni esteri dell'acido caffeico, soprattutto prenil caffeato e fenil etil caffeato, ma anche altri esteri, tra cui il benzil salicilato ed il benzil cinnamato contribuiscono alla sensibilizzazione (Walgrave S.E. et al., 2005). Altre specie sono state anche indicate come

possibili responsabili o corresponsabili delle reazioni allergiche. Alcune delle specie volatili riportate nella lista compilata dalla SCCNFP (Comitato scientifico dei prodotti cosmetici e dei prodotti non alimentari destinati ai consumatori), coinvolte nelle allergie da contatto in prodotti cosmetici, possono essere presenti anche nella propoli: benzil salicilato, benzil cinnamato, alcol benzilico, benzoato di benzile, eugenolo, geraniolo, cumarina, limonene (Bonvehi J.S. et al., 1994).

Occorre poi cautela nell'uso della propoli se si assumono numerosi farmaci contemporaneamente, poiché si potrebbero verificare interazioni date dall'inibizione di vari citocromi da parte della propoli. I citocromi P450 sono enzimi coinvolti nel metabolismo di molti farmaci nel fegato. L'inibizione di questi enzimi potrebbe alterare la concentrazione di alcuni farmaci nel corpo, influenzando la loro efficacia o aumentando il rischio di effetti collaterali.

In alcuni casi, la propoli può influenzare i processi di coagulazione del sangue. Alcuni studi suggeriscono che la propoli potrebbe avere effetti anticoagulanti. Questo può essere attribuito a diversi componenti della propoli, tra cui i flavonoidi, che possono avere attività antitrombotiche (Burdock G.A., 1998).

Questi effetti anticoagulanti della propoli possono essere una considerazione importante, specialmente per coloro che stanno già assumendo farmaci anticoagulanti o che hanno condizioni mediche che coinvolgono la coagulazione del sangue. L'uso della propoli in combinazione con farmaci anticoagulanti potrebbe aumentare il rischio di sanguinamento.

Capitolo 3 - Utilizzi della propoli in diversi ambiti

3.1 Uso nel passato

Esistono testimonianze storiche della raccolta e dell'utilizzo della propoli da parte degli antichi egizi, dei Persiani e dei Romani. Gli Egizi sfruttavano le proprietà antiputrefattive per l'imbalsamazione delle salme e la utilizzavano come rimedio per alleviare molti disturbi. I Greci utilizzavano la propoli insieme ad altre resine come Olibano e Benzoino, oltre a essenze aromatiche, per la preparazione di profumi. Diversi autori greci e romani hanno documentato le preparazioni e l'applicazione della propoli, considerandola il terzo prodotto naturale delle api accanto a miele e cera. Come, ad esempio, Ippocrate indica l'uso della propoli per la cura di ferite e ulcere, sia esterne che interne (Castaldo S. e Carpasso F., 2002).

Nel Medioevo e tra i medici arabi, la propoli era ampiamente utilizzata per le sue proprietà antisettiche, cicatrizzanti e disinfettanti. La propoli veniva impiegata come cicatrizzante nel trattamento delle ferite e utilizzata come disinfettante per la bocca, per le sue proprietà antibatteriche e antinfiammatorie potevano contribuire a prevenire infezioni e promuovere la guarigione (Serra G., 2002).

Dioscoride, nell'opera "*De Materia Medica*," ne citava le proprietà espettoranti. Questo suggerisce che la propoli poteva essere impiegata per alleviare disturbi respiratori come tosse e congestione. Plinio il Vecchio, nella sua opera "*Naturalis Historia*," parlava del sollievo portato dalla propoli per le malattie da raffreddamento e sottolineava il suo effetto cicatrizzante. Questo indica che la propoli veniva impiegata per mitigare sintomi associati a raffreddori e influenze e per favorire la guarigione delle vie respiratorie (Serra G., 2002).

Avicenna, noto anche come Ibn Sina, un celebre medico, filosofo e studioso persiano dell'antichità islamica, descrisse l'uso della "cera nera" che è

comunemente associata alla propoli.

Secondo le descrizioni di Avicenna, la cera nera, presumibilmente riferendosi alla propoli, veniva utilizzata come rimedio per affrontare il freddo, oltre ad essere impiegata per trattare condizioni come eczemi, mialgia (dolore muscolare) e reumatismi (Castaldo S. e Carpasso F., 2002).

L'uso della propoli come protezione contro i malanni del freddo, disinfettante e cicatrizzante ha continuato nel corso delle epoche. Le farmacopee londinesi del XVII secolo elencano la propoli tra le droghe medicinali riconosciute. Questo riconoscimento ufficiale testimonia della sua accettazione nella pratica medica dell'epoca.

La propoli non era confinata a regioni specifiche, ma era conosciuta anche da popoli lontani. Ad esempio, è testimoniato l'uso degli Inca come agente antipiretico, indicando che la propoli era apprezzata anche da civiltà del Vecchio Mondo, dimostrando la sua diffusione geografica e la sua rilevanza nelle tradizioni medicinali di diverse culture (Castaldo S. e Capasso F., 2002).

Nei trattati di medicina russa del XII secolo, la propoli veniva descritta come un coadiuvante odontoiatrico e veniva impiegata per contrastare le infiammazioni del cavo orale. Nel XIII secolo, in Francia ed Italia, la propoli veniva utilizzata per lenire le piaghe, sottolineando le sue proprietà cicatrizzanti. In Germania e Russia, veniva inclusa in pomate e balsami per affrontare problematiche cutanee, sottolineando il suo utilizzo per la cura della pelle. In Georgia, era in uso mettere un po' di propoli sull'ombelico dei neonati e veniva strofinata sui giocattoli dei bambini, questo tipo di applicazione suggerisce la percezione della propoli come agente antimicrobico e disinfezione naturale (Castaldo S. e Carpasso F., 2002).

In un periodo in cui l'era degli antibiotici era ancora sconosciuta, la propoli rappresentò una sostanza salvifica che contribuì a preservare molte vite dalla morte causata dalle infezioni.

L'uso tradizionale della propoli nella preparazione di vernici ha una storia

interessante, specialmente nell'ambito della liuteria. I liutai italiani del '700, tra cui il celebre Antonio Stradivari, sembra utilizzassero la propoli nella creazione delle vernici per i loro strumenti musicali, come i violini. La propoli, quando combinata con altri ingredienti nella preparazione delle vernici, potrebbe aver contribuito a conferire proprietà uniche alle finiture degli strumenti musicali. Si crede che la particolare sonorità e qualità del suono dei violini Stradivari e di altri liutai di quel periodo siano state influenzate positivamente dalla composizione speciale delle vernici utilizzate, tra cui la propoli. Questa pratica tradizionale mostra la versatilità della propoli e la sua applicazione in contesti diversi, non solo in campo medico, ma anche nell'arte e nella finitura di strumenti musicali.

Tra il diciassettesimo e il ventesimo secolo, il farmaco divenne estremamente popolare, grazie alla dimostrata attività antibatterica. Nonostante l'enorme popolarità, tuttavia, l'utilizzo della propoli rimase confinato alla medicina popolare per la maggior parte del secolo scorso. Solo a partire dal 1970 l'attenzione scientifica di numerosi ricercatori verso questo prodotto ha portato alla pubblicazione di studi di rilievo su riviste internazionali (Castaldo S. e Carpasso F., 2002).

3.2 Uso ai giorni d'oggi

Come descritto ampiamente in precedenza, la propoli ha dimostrato nel corso del tempo molteplici proprietà e benefici per la salute umana. Tra le sue varie proprietà, la propoli è nota per avere effetti antibatterici, antivirali, antimicotici, immunostimolanti, antiossidanti, antinfiammatori, cicatrizzanti, riepitelizzanti, analgesici e lassativi.

Queste caratteristiche la rendono un ingrediente versatile con un ampio spettro di applicazioni nella preparazione di prodotti igienico-cosmetici. La propoli è utilizzata nella produzione di detersivi, creme solari, doposole, dopobarba,

creme di bellezza, rossetti e altri prodotti per la cura della pelle. Inoltre, trova impiego nell'igiene del cuoio capelluto, della bocca e dei denti.

Gli apicoltori spesso utilizzano la propoli nell'affumicatore come parte delle loro pratiche per gestire e manipolare le api. L'affumicatore è uno strumento che emette fumo controllato all'interno dell'alveare, e la propoli, bruciando, contribuisce a generare un fumo che ha vari effetti positivi. La propoli inoltre manifesta una certa azione nei confronti di alcuni “nemici delle api” quali la tarma della cera (*Galleria mellonella*) e la varroa (*Varroa destructor*) (Popova M. et al., 2004).

L'utilizzo della propoli in agricoltura, orticoltura e giardinaggio come insetticida, acaricida e agente antifungino è interessante e rappresenta un'applicazione innovativa di questa sostanza naturale. Ecco alcune delle modalità in cui la propoli viene utilizzata in queste attività:

- **Insetticida:** la propoli può essere utilizzata come insetticida, in particolare contro alcuni afidi come *Eriosoma lanigerum*. L'azione insetticida può derivare dalle proprietà antimicrobiche della propoli e dalla sua capacità di respingere o danneggiare gli insetti nocivi;
- **Acaricida:** contro acari dannosi, l'uso della propoli può essere una soluzione naturale. L'applicazione della propoli potrebbe interferire con il ciclo di vita degli acari o ostacolarne l'infestazione;
- **Antifungino:** la propoli è nota per le sue proprietà antifungine. Contro funghi dannosi come *Botrytis spp.*, *Fusarium spp.*, e *Sclerotium spp.*, si possono utilizzare preparati a base di propoli in soluzione idroalcolica arricchita con sostanze come zolfo o silicato di sodio;
- **Antibatterico:** la propoli può essere impiegata nella difesa da batteri dannosi alle piante, inclusi batteri come *Erwinia amylovora*. Le proprietà antibatteriche della propoli possono contribuire a proteggere le colture da malattie batteriche.

L'uso della propoli in agricoltura è una prospettiva interessante poiché offre

un'alternativa più naturale e sostenibile rispetto ai prodotti chimici sintetici.

3.3 Come si assume la propoli

La diversità delle proprietà benefiche della propoli ha portato alla creazione di numerosi preparati che possono essere utilizzati in una varietà di contesti per adulti e bambini.

Possiamo trovare, per prima cosa, la propoli pura (o grezza), che è la forma più naturale di propoli. Dev'essere garantita pura, priva di residui (legno, altre impurità portate dalle api). In quanto tale, mantiene pressoché invariati anche il suo sapore e odore molto forti, i quali rischiano di rendere questo preparato, sgradevole. La propoli allo stato grezzo è indicata soprattutto contro le affezioni del cavo orale (quali ad esempio gengiviti, tonsillite, ascessi, stomatiti): è sufficiente lasciare sciogliere in bocca qualche granulo, nella dose massima di circa 3 grammi al giorno.

L'impiego della propoli in campo medico, cosmetico e dermatologico è spesso basato sugli estratti di propoli anziché sul prodotto grezzo. Per diverse ragioni, tra cui il fatto che la propoli grezza può essere scissa con difficoltà dagli enzimi presenti nel corpo umano, rendendola difficilmente assimilabile. Gli estratti di propoli, ottenuti attraverso specifici processi di estrazione, possono essere più facilmente assimilati dal corpo umano. Gli estratti di propoli sono spesso più concentrati in principi attivi, di maggior interesse rispetto al prodotto grezzo, gli estratti permettono una maggiore standardizzazione del prodotto finale. Questo aspetto è particolarmente importante nei settori medico e cosmetico; in tali ambiti la consistenza e la concentrazione di principi attivi sono elementi fondamentali nell'ottenimento di risultati prevedibili e ripetibili.

In sintesi, l'utilizzo degli estratti di propoli offre vantaggi in termini di assimilazione, maneggevolezza e concentrazione di principi attivi, rendendoli preferiti in molte applicazioni mediche, cosmetiche e dermatologiche.

Le moderne tecniche di estrazione, messe a punto da laboratori di aziende farmaceutiche autorizzate e controllate dal Ministero della Sanità, hanno permesso di produrre diversi tipi di estratti.

L'estratto idroalcolico di propoli, chiamato anche tintura madre di propoli, è forse la forma più diffusa ed è la classica propoli in gocce. Essa contiene alcool etilico e propoli pura, in quantità molto elevata, fino a circa il 20 (in alcuni casi 50) % di propoli nel prodotto finale, pertanto è molto potente. La tintura madre ha un'azione cicatrizzante, antinfiammatoria e antiossidante naturale, ed è utilizzata per la cura di vari disturbi, grazie alla presenza di flavonoidi (galangina e pinocembrina), oli essenziali, sali minerali, pollini e vitamina C (Kosenko S.V. e Kosovich T.I., 1990). L'estratto può essere utilizzato sia per usi interni, cioè ingerito, oppure per usi esterni, ossia applicato sulla pelle o nel cavo orale.

L'uso esterno della tintura madre di propoli è per scopi:

- Cicatrizzante e disinfettante, in caso di ferite o piaghe;
- Antimicotico, per eliminare funghi superficiali, ad esempio per la cura della candidosi;
- Disturbi, infiammazioni e fastidi del cavo orale (es. herpes, afte, stomatite, piorrea, gengivite).

Mentre, l'uso interno della tintura madre di propoli, che si assume sia direttamente in goccia o disciolta in acqua oppure in una bevanda, è per scopi:

- Depurativo del fegato e per aiutare lo stomaco, contrastando fastidi dell'apparato digerente come digestione difficile;
- Stimolante della circolazione sanguigna e protettivo nei confronti di capillari fragili;
- Antiossidante naturale e proprio antibiotico e immunostimolante naturale.

È presente anche la soluzione idroglicerica. Questo estratto impiega una miscela

di acqua e glicerina come solventi, al contrario dell'estratto idroalcolico. La glicerina, insieme all'acqua, aiuta ad estrarre i principi attivi dalla propoli, creando un estratto che può essere utilizzato in prodotti cosmetici e dermatologici.

L'estratto molle di propoli è una pasta cremosa estratta a partire dalla tintura di madre, mediante l'evaporazione dell'alcool presente, o dalla propoli grezza. Utile per la salute della pelle, cioè a livello topico e dermatologico, ha notevoli proprietà cicatrizzanti e antibiotiche. L'estratto molle di propoli può essere usato in caso di: foruncoli, eczemi, piaghe, arrossamenti della pelle, ustioni ed eritemi, ascessi e mal di denti, contusioni e ferite, geloni (Araújo C. et al., 2022).

Oltre all'estratto molle e idroalcolico, si trova anche l'estratto secco, ossia in pastiglie, granuli, tavolette o compresse. Essa contiene propoli grezza purificata, con la rimozione del solvente (solitamente acqua o alcol), per ottenere una forma secca dell'estratto. Essa è indicata come prevenzione delle malattie da raffreddamento e utilizzato in integratori alimentari, ma soprattutto nel trattamento delle patologie dell'apparato digerente e urinario. La formulazione prevede spesso l'aggiunta di miele, agrumi e sostanze balsamiche come menta e eucalipto.

Per finire, c'è l'*oleum propolis*. Questo estratto è ottenuto utilizzando oli come solventi. L'*oleum propolis* può essere utilizzato in formulazioni oleose ed è diffuso ampiamente anche nel settore cosmetico e dermatologico. Sul mercato sono disponibili varie formulazioni di *oleum propolis* destinate all'uso topico e adatte a diverse esigenze: creme per pelli impure e acneiche, pomate lenitive per pelli sensibili e unguenti protettivi, contro i rossori causati dal freddo. La propoli, infatti, grazie alla sua azione antiossidante e protettiva nei confronti dei capillari, oltre che antisettica, è una sostanza indicata per aiutare le pelli più delicate e reattive, soggette a dermatiti e irritazioni (Zedan H. et al., 2009).

La regolamentazione e il controllo delle aziende farmaceutiche da parte del

Ministero della Salute contribuiscono a garantire la qualità e la sicurezza di questi estratti. La propoli non è iscritta nella farmacopea italiana, europea e americana; per la preparazione dei diversi prodotti contenenti propoli si prende come riferimento il titolo dell'estratto, calcolato in funzione del contenuto di flavonoidi totali, e che, sulla base dei numerosi lavori scientifici, corrisponderebbe ad almeno 30 mg/ml (Tringale M., 1989).

Capitolo 4 - Tecniche di analisi della propoli

4.1 Standardizzazione

La diversità nella composizione della propoli presenta una sfida in termini di standardizzazione. Attualmente, non esistono standard riconosciuti a livello internazionale per valutare la qualità della propoli.

Oltre all'esame organolettico, per valutare la qualità della propoli vengono spesso presi in considerazione i polifenoli biologicamente attivi e i quantitativi di flavonoidi, in particolare la galangina che inibisce l'attività della lipoperossidasi e della xantina ossidasi esibendo una potente azione antiossidante (Bankova V.S., 2005).

In base alla quantità di flavonoidi si possono identificare tre qualità di propoli:

- propoli con contenuto di flavonoidi < 2.0%, con attività di rimozione dei radicali liberi collocata tra l'8 e il 14%;
- propoli con contenuto di flavonoidi di circa il 5% con attività di rimozione dei radicali liberi collocata tra il 14 e il 18%;
- propoli con contenuto di flavonoidi tra il 5 e l'8% e attività di rimozione dei radicali liberi superiore al 18%.

È importante considerare che la propoli proveniente dal Brasile presenta quantità inferiori di flavonoidi rispetto a quella di origine europea (Woisky R.G. e Salatino A., 1998).

Si raccomanda che la propoli contenga preferibilmente una bassa percentuale di cera, la quale in alcuni casi può costituire fino al 50% delle sostanze totali. Tuttavia, secondo quanto osservato da altri autori, è possibile che la cera costituisca fino al 30% della composizione della propoli.

La standardizzazione delle tinture di propoli rappresenta una sfida particolare. È stato notato che quanto maggiore è la quantità di componenti estratte, tanto più efficace diventa la soluzione di propoli. Ma in commercio si trovano tinture

sia alcoliche che idroalcoliche, e ovviamente la percentuale di alcol influenza le solubilizzazioni delle diverse componenti della propoli. È stato osservato che le tinture di propoli con un contenuto di etanolo compreso tra il 60% e l'80% presentano un tenore di flavonoidi più elevato, mostrano una maggiore azione battericida e manifestano un'attività biologica superiore rispetto alle tinture di propoli contenenti più acqua (Tosi B. et al., 1996). Di conseguenza, si raccomanda un'estrazione utilizzando almeno il 60-80% di etanolo.

La qualità della propoli è influenzata anche dal modo in cui viene staccata dai telaini, dai listelli, dalle griglie di raccolta e dalle pareti interne delle arnie. Quando la propoli è destinata a scopi medicinali e cosmetici, è essenziale che sia pulita e priva di frammenti di legno o metallo. Per questo motivo, le griglie in plastica disponibili sul mercato vengono fortemente raccomandate. Per ottenere una propoli pulita, si suggerisce di staccarla manualmente dalle griglie in plastica.

A causa della sua natura grasso-resinosa, tanto nella propoli quanto nella cera, si accumulano molte sostanze nocive provenienti dall'ambiente e dalle pratiche apistiche. Queste contaminazioni includono soprattutto metalli pesanti come piombo e cadmio, oltre a sostanze utilizzate in apicoltura, specialmente acaricidi (Bankova V.S., 2005). Questo sottolinea l'importanza di assicurarsi che la propoli provenga esclusivamente da arnie collocate lontano da strade e non esposte a sostanze sintetiche utilizzate nell'apicoltura.

Il controllo di qualità della propoli è un processo essenziale per garantire che il prodotto finale soddisfi gli standard desiderati. Di seguito sono elencati alcuni aspetti chiave del controllo di qualità della propoli:

- **Aspetto visivo:** verifica dell'aspetto esterno della propoli per assicurarsi che sia priva di impurità, frammenti di legno o metalli;
- **Origine e Raccolta:** assicurarsi che la propoli provenga da fonti affidabili e che siano rispettate le pratiche apistiche raccomandate

durante la raccolta;

- **Purezza:** controllo della propoli per garantire che sia priva di residui di api, parassiti o altre contaminazioni;
- **Composizione chimica:** analisi della composizione chimica della propoli per determinare la presenza e la quantità di componenti attivi come polifenoli e flavonoidi;
- **Contaminanti ambientali:** test per la presenza di contaminanti ambientali come metalli pesanti (piombo, cadmio) e sostanze utilizzate in apicoltura, come gli acaricidi;
- **Metodo di Estrazione:** valutazione del metodo di estrazione utilizzato per assicurare che sia stato impiegato un processo appropriato e che non siano presenti residui di solventi;
- **Igiene e Pulizia:** assicurarsi che il processo di raccolta e lavorazione della propoli sia eseguito in condizioni igieniche adeguate per evitare contaminazioni microbiche.

Il controllo di qualità della propoli dovrebbe essere un processo continuo e accurato per garantire la produzione di un prodotto finale sicuro ed efficace.

4.2 Esigenza di un'analisi polistrumentale

La propoli viene comunemente caratterizzata definendo il contenuto di alcune classi di metaboliti secondari. La quantità di fenoli totali può essere determinata attraverso un metodo colorimetrico utilizzando il reagente di Folin-Ciocalteu. Inoltre, uno dei metodi ampiamente adottati per valutare l'attività antiossidante della propoli si basa sul saggio che sfrutta la riduzione del radicale 2,2-difenil-1-picrilidrazile (DPPH) da parte degli antiossidanti presenti nella propoli (Molyneux P., 2004). Tuttavia, come abbiamo visto, la sua composizione può variare enormemente in base alle condizioni ambientali. Una descrizione generica delle proprietà antiossidanti e la definizione dei fenoli e dei flavonoidi totali, nonostante dia un dato generale dell'attività biologica della propoli,

spesso non è caratterizzante di tutte le sue proprietà.

La complessità chimica della propoli, specialmente la diversità di polarità dei suoi componenti, non consente l'utilizzo di una singola tecnica analitica per una completa caratterizzazione. Attualmente, è essenziale confrontare i dati ottenuti da diversi strumenti analitici per ottenere una visione completa della composizione della propoli. Questo approccio poli strumentale consente di considerare una vasta gamma di composti presenti nella propoli e di comprendere meglio le relazioni tra la sua composizione chimica e le sue proprietà biologiche. La quantificazione dei singoli composti fenolici presenti nella propoli può essere una sfida a causa della complessità della matrice e della variabilità delle condizioni ambientali che influenzano la composizione chimica della propoli. Le tecniche cromatografiche strumentali, come l'HPLC, possono essere utilizzate per la quantificazione dei singoli composti, ma spesso sono costose e richiedono una preparazione del campione più laboriosa. Tecniche avanzate di cromatografia liquida accompagnata a spettrometria di massa ad alta risoluzione (LC-HRMS) e studi di metabolomica possono essere abbastanza descrittivi, grazie al fatto che si possono individuare marcatori molecolari presenti anche a bassissima concentrazione (Osmany C. et al., 2007).

Un'altra importante componente della propoli, spesso poco considerata, è rappresentata dai composti organici volatili (VOCs) che comprendono diversi terpeni e terpenoidi dall'importante attività biologica, che possono essere quantificati con l'utilizzo di tecniche di gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS) precedute da microestrazione in fase solida (SPME) (Siheri W. et al., 2017). Quest'ultima tecnica permette l'estrazione della componente volatile di una matrice evitando alcuni aspetti negativi come la maggiore manodopera e maggiori tempi di analisi, nonché la degradazione dei composti volatili durante i processi di idrodistillazione e preparazione degli oli essenziali

della propoli.

Di solito, per determinare la presenza di pesticidi contaminanti nella propoli (quali insetticidi, acaricidi, erbicidi, fungicidi ecc.), si utilizzano gascromatografia e spettrometria di massa, utilizzando protocolli di estrazione che impiegano solventi come acetonitrile, acetone e acetato di etile insieme a un'ulteriore purificazione del campione. In uno studio è stata analizzata la presenza di pesticidi in 106 campioni di propoli grezza provenienti da Spagna e Cile (González-Martín M.I. et al., 2017). I componenti rilevati e quantificati mediante spettrometria di massa gascromatografica sono stati i seguenti: triadimefon, propham, procymidone, metazacloro, folpet, dicofol e diclofluanide. Sono state riscontrate differenze nei pesticidi presenti tra le diverse regioni. La spettroscopia nel vicino infrarosso è stata utilizzata per rilevare e quantificare il pesticida triadimefon nella propoli (González-Martín M.I. et al., 2017).

4.3 Spettrometria e spettrofotometria

Nel contesto della caratterizzazione della propoli, la spettrofotometria UV-VIS può essere utilizzata per analizzare la presenza di specifici composti, come ad esempio i flavonoidi, che sono componenti importanti della propoli. Tuttavia, è importante sottolineare che la spettrofotometria UV-VIS da sola non è sufficiente per fornire una caratterizzazione completa della propoli. Quindi, i risultati ottenuti con questa tecnica sono normalmente usati insieme ad altri dati.

Oltre cinquecento campioni di propoli provenienti da diverse regioni del Brasile sono stati caratterizzati attraverso spettrofotometria UV-VIS, cromatografia su strato sottile, HPLC-PAD, e test di attività antimicrobica e antinfiammatoria. Grazie a queste analisi, è stato possibile classificare i campioni di propoli raccolti in dodici gruppi distinti in base ai dati ottenuti (Koo H. et al., 2000).

Gli spettri dei dodici gruppi, registrati nell'intervallo 200-400 nm, presentano

profili piuttosto variabili: alcuni mostrano un massimo molto pronunciato intorno ai 290-300 nm e un minimo intorno ai 250 nm, mentre altri sono più indistinti, senza un massimo chiaramente definito, e alcuni non hanno uno spettro registrabile. Questo tipo di variabilità è stato osservato anche in campioni provenienti dall'Argentina meridionale. Dove, i campioni caratterizzati da un massimo di 290 nm fino ad un minimo di circa 250 nm sono stati attribuiti a uno stesso gruppo di propoli brasiliane, con un'associazione presumibilmente legata all'origine botanica da pioppo (Isla M.I. et al., 2005). I coefficienti di estinzione di alcuni campioni di propoli giapponesi provenienti da pioppi sono stati misurati e correlati con il contenuto di polifenoli totali ($R = 0,69$) e flavonoidi ($R = 0,83$) (Ahn M. et al., 2004). Allo stesso modo, sono stati misurati i coefficienti di estinzione di alcuni campioni di propoli coreane e brasiliane anch'essi derivati da pioppi, e la correlazione con il contenuto di polifenoli totali ($R = 0,95$) e flavonoidi ($R = 0,78$) è risultata molto buona (Koo H. et al., 2002). Questi dati suggeriscono che in questo tipo di propoli, i fenoli e soprattutto i flavonoidi sono le specie responsabili dell'assorbimento UV.

È stato effettuato uno studio sulle concentrazioni di Cd, Ni, Pb, Fe, Mg e Zn nella propoli e su altri prodotti apitari situati in diverse località del Małopolska Voivodeship, nel sud della Polonia, utilizzando la spettrometria di massa inorganica (ICP-MS – Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) (Formicki G. et al., 2013). Questa tecnica che si basa sull'utilizzo della spettrometria di massa abbinata al plasma accoppiato induttivamente, prevede l'utilizzo di una torcia al plasma (ICP) per produrre la ionizzazione e di uno spettrometro di massa per la separazione e rivelazione degli ioni prodotti. È stato riscontrato che la propoli di alcune aree era significativamente contaminata da Pb, superando la soglia massima di presenza pari a 0.1 mg/kg così come stabilito dal Reg. UE 2015/1005 (Formicki G. et al., 2013).

4.4 Analisi cromatografiche

Le tecniche cromatografiche sono ampiamente utilizzate per la caratterizzazione dei campioni di propoli. Numerosi studi descrivono metodologie specifiche per l'analisi di flavonoidi e fenoli nella propoli, utilizzando diverse tecnologie di separazione e rivelazione: elettroforesi, HPLC-PAD, HPLC-ESI anche con la trappola ionica e analisi MS-MS, GC-FID di specie derivatizzate, GC-MS ad alta risoluzione. Le tecniche cromatografiche si sono dimostrate altamente efficaci nel registrare i profili qualitativi di composizione dei campioni di propoli, consentendo il confronto con quelli delle resine, ovvero il materiale vegetale raccolto dalle api per la produzione della propoli. Grazie a tali analisi, è stato possibile determinare l'origine botanica dei campioni di propoli provenienti da diverse parti del mondo.

L'approfondito lavoro analitico comparativo dei profili di composizione tra campioni di resina di pioppo e campioni di propoli ha evidenziato che nelle regioni temperate le api raccolgono principalmente la materia prima per la produzione della propoli dai pioppi (Bankova V.S. et al., 2000). L'analisi GC-MS su campioni di propoli britannica e resine di pioppo ha confermato una chiara correlazione nei profili di composizione tra i due materiali (Greenaway W. et al., 1990). Gli studiosi sono giunti alla conclusione che i profili di composizione dei campioni di propoli esaminati sono comparabili solo con quelli di alcune specifiche specie di pioppo, appartenenti alla sezione *Aigeiros*. Tali risultati sono stati ulteriormente supportati dall'analisi GC dello spazio di testa della propoli britannica (Greenaway W. et al., 1990).

Analoghi lavori comparativi sono stati condotti da diversi studiosi. L'analisi GC-MS su campioni di propoli e resine di pioppo provenienti dalla Bulgaria e dalla Mongolia ha rivelato che la materia prima per la manifattura dei campioni di propoli bulgara è la specie *Populus nigra*, mentre per i campioni di propoli

mongola è la specie *Populus suaveolens* (Bankova V.S. et al., 1992). In un altro studio, i profili TLC e GC-MS di campioni di propoli da arnie nel Deserto dell'Arizona sono stati confrontati con quelli di estratti di resine di *Ambrosia deltoidea* (caratterizzata da un profilo flavonoidico singolare) e di *Encelia farinosa* (caratterizzata dall'assenza di flavonoidi e dalla presenza di molecole basate su benzofurani e benzopirani). Il confronto ha mostrato che entrambe le piante sono effettivamente fonti di materia prima per la propoli; alcune propoli presentano estratti provenienti da una sola specie, mentre altre sono miste (Wollenweber E. et al., 1997).

L'analisi GC-MS è in grado di evidenziare le differenze nei profili di composizione di propoli provenienti da pioppi di specie diverse. Come già riportato, è stato possibile distinguere le specie specifiche di origine di alcuni campioni di propoli mongole e bulgare: le prime, da *Populus suaveolens*, sono caratterizzate dal contenuto esclusivo di acido cinnamico e derivati, oltre all'acido caffeico, mentre le seconde presentano una notevole varietà di questi composti (Bankova V.S. et al., 1992). In un'analisi dei profili GC-MS dello spazio di testa e del balsamo di un campione di propoli britannica, sono emersi composti appartenenti a classi non comunemente presenti nella propoli di pioppo: calconi ed idrocalconi (Wollenweber E. et al., 1997).

L'analisi della propoli può essere eseguita anche per evidenziare la presenza di contaminanti ambientali. Esiste uno studio dove della propoli e degli estratti a base di propoli, ottenuti dagli apicoltori e dal mercato sono stati sottoposti ad analisi per la presenza di 13 idrocarburi policiclici aromatici (IPA), inclusi otto IPA ad alto peso molecolare (IPA8) (Moret S. et al., 2010). Questi ultimi sono stati recentemente designati dall'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) come indicatori affidabili della presenza di IPA cancerogeni e genotossici negli alimenti. I campioni sono stati esaminati attraverso un metodo veloce che impiega la saponificazione/estrazione simultanea assistita da

microonde e la separazione HPLC su una colonna a fase inversa (C18), con rilevazione spettrofluorimetrica. Circa il 50% dei campioni esaminati mostrava concentrazioni di benzo[a]pirene (BaP) superiori a 2 µg/kg, valore che è stato proposto come limite normativo per gli integratori alimentari (Moret S. et al., 2010). Se valutati singolarmente, gli integratori alimentari a base di propoli esaminati sembrano non rappresentare gravi preoccupazioni per la salute umana, in confronto alle assunzioni alimentari medie ed elevate calcolate dall'EFSA.

4.5 Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare

La spettroscopia NMR (Nuclear Magnetic Resonance) è un metodo analitico che sfrutta le proprietà magnetiche dei nuclei atomici per ottenere informazioni sulla struttura molecolare di una sostanza. Nel contesto della propoli, la spettroscopia NMR può essere utilizzata per ottenere una "impronta digitale" molecolare della miscela complessa. Mentre le tecniche cromatografiche sono efficaci nel separare e identificare singoli componenti, la spettroscopia NMR fornisce informazioni sulle interazioni molecolari e sulla struttura complessiva della miscela. Questo approccio può essere particolarmente utile quando si tratta di campioni complessi come la propoli, dove la presenza di numerosi composti rende difficile l'identificazione specifica di ciascun componente.

In un lavoro molto interessante, sono stati registrati gli spettri di risonanza magnetica protonica di quarantuno campioni idroetanolicci di propoli provenienti da diverse parti del mondo, inclusi Cina, Europa, Africa e Oceania. Le prime tre componenti principali, che spiegano il 59% della varianza, hanno evidenziato che i campioni di propoli tendono a raggrupparsi in base alla loro origine geografica: i campioni europei sono vicini ma distinti da quelli cinesi, che formano un secondo gruppo; quelli africani sono più sparsi, ma comunque separati da tutti quelli originari dei paesi temperati; infine, quelli provenienti dall'Oceania sono separati da tutti gli altri, anche se non molto vicini tra loro

(Watson D.G. et al., 2006). Gli studiosi hanno successivamente valutato se la separazione ottenuta con l'analisi PCA potesse spiegare i dati misurati di alcune proprietà tipiche della propoli, come la capacità antiossidante, la capacità di catturare radicali liberi e il contenuto di flavoni e flavonoli. I campioni all'interno dei singoli gruppi hanno mostrato un comportamento omogeneo rispetto a ciascuna di queste proprietà, differenziandosi da quello degli altri gruppi. Le propoli da zone temperate (Cina ed Europa) hanno presentato elevate concentrazioni di flavoni e flavonoli, oltre a una notevole capacità antiossidante. Al contrario, le propoli africane hanno mostrato livelli bassi per tutti questi parametri. Interessante è il fatto che la capacità di catturare radicali liberi è risultata elevata anche nei campioni africani, nonostante il basso contenuto di flavoni e flavonoli, suggerendo la presenza di specie attive diverse da quelle comunemente presenti nelle propoli di pioppo (Watson D.G. et al., 2006).

Anche la propoli cubana è stata studiata mediante risonanza magnetica nucleare. Gli spettri NMR di 65 campioni provenienti da diverse fonti sono stati registrati insieme ai profili di composizione ottenuti tramite HPLC-PAD. Lo studio ha evidenziato la presenza dei tre tipi diversi di propoli, che sono stati chiamati marrone, rossa, gialla (Osmany C. et al., 2007). I campioni di propoli marrone sono stati confermati come contenenti benzofenoni prenilati, con il nemorosone predominante. Dato che questa molecola è caratteristica della *Clusia rosea*, gli autori hanno concluso che questa specie vegetale potrebbe essere la principale fonte di questa propoli (Osmany C. et al., 2007). Tuttavia, la presenza di altri benzofenoni poliprenilati suggerisce che le api potrebbero raccogliere anche resine da altre specie di *Clusia*. I campioni di propoli rossa sono stati confermati come contenenti isoflavonoidi e provengono da poche zone costiere. Tuttavia, non è stato possibile risalire all'origine botanica di questa propoli. La propoli gialla è caratterizzata principalmente da segnali

NMR di carboni e protoni alifatici (Osmany C. et al., 2007). Nell'analisi mediante gradiente HPLC su fase inversa, tutte le specie sono eluite con elevati percentuali di solvente organico, indicando la presenza di specie poco polari. Non è stato possibile risalire all'origine botanica di questa propoli, ma si ritiene che le specie prevalenti siano terpeni e steroli (Osmany C. et al., 2007).

4.6 Analisi spettrofotometrica per la determinazione del contenuto di classi di composti

Sono molto diffusi metodi spettrofotometrici mirati alla determinazione del contenuto totale di specifiche classi di composti, come il metodo Folin-Ciocalteu. Questo metodo spettrofotometrico è comunemente utilizzato per determinare il contenuto totale di specie fenoliche in una soluzione. Si basa sulla reazione redox tra i fenoli presenti nella matrice (sostanze riducenti) e gli ioni polimerici ossigenati di tungsteno e molibdeno, noti come reattivo di Folin-Ciocalteu (Huang D. et al., 2005). La reazione produce un complesso colorato che può essere rilevato tramite spettrofotometria. La quantità di colore prodotta è proporzionale alla quantità di fenoli presenti, consentendo una stima del contenuto fenolico totale nella propoli. Per poter determinare quantitativamente i fenoli totali in campioni reali, è necessario tarare il metodo con una specie fenolica standard opportuna. Il metodo può essere usato nell'intervallo in cui la taratura risulta lineare (Huang D. et al., 2005). Per l'applicazione del metodo alla propoli, sono stati proposti come standard l'acido gallico e una miscela bilanciata di galangina-pinocembrina 1:2 (Popova M. et al., 2004). La quantità di fenoli determinata con il descritto metodo spettrofotometrico tende ad essere più bassa di quella determinabile per HPLC, tra l'85 e 95 % circa, e non sembrano esserci significative differenze nella scelta degli standard di riferimento proposti (Popova M. et al., 2004). Una valutazione importante che emerge dall'analisi per gruppi funzionali è la correlazione tra il contenuto di fenoli totali e di flavonoidi totali.

Il confronto tra i valori determinati mediante HPLC su campioni di propoli provenienti dall'Uruguay e dalla Cina evidenzia che la quantità di flavonoidi è leggermente inferiore, ma molto vicina, a quella dei fenoli totali (Bonvehi J.S. et al., 1994). Questa tendenza è riscontrata anche in alcuni campioni di propoli europea, dove i dati ottenuti tramite misure HPLC e spettrofotometriche sono molto simili (Popova M. et al., 2004). Tali risultati sembrano suggerire che, almeno nelle propoli di origine temperata, i flavonoidi costituiscano la frazione preponderante dei fenoli.

Conclusioni

È solo dagli anni '70 che l'attenzione dei ricercatori e studiosi si è concentrata sulla propoli, con la pubblicazione di articoli, di notizie e di studi scientifici. Tutto ciò ha portato allo sviluppo di nuove formulazioni allo scopo di migliorare alcune caratteristiche biologiche e organolettiche; attualmente sono numerose le applicazioni della propoli in diversi ambiti, ad esempio quale costituente principale di prodotti dermocosmetici.

La propoli ha diversi usi in medicina e sono state attribuite molteplici proprietà benefiche, come le proprietà antimicrobiche, antinfiammatorie e antiossidanti, ma non tutte supportate da solide analisi sperimentali e chimiche, anche perché gli studi su alcuni temi sono ancora in corso e la propoli non dovrebbe sostituire le terapie mediche convenzionali. Il tema della propoli rimane ancora adesso un tema molto dibattuto tra estimatori e denigratori di questa particolarissima sostanza.

La precisazione del "tipo" di propoli costituisce un elemento cruciale nel monitoraggio della qualità di questo prodotto apistico. Inoltre, adottare un approccio integrato che impieghi diverse tecniche analitiche è essenziale per una descrizione completa di questa sostanza estremamente complessa. Le informazioni sulla propoli hanno stimolato una significativa evoluzione nel corso del tempo, grazie agli studi approfonditi sulla sua composizione chimica e sulle sue attività biologiche. Negli anni '90, ad esempio, si riteneva che la composizione della propoli fosse piuttosto stabile, e che le analisi spettrofotometriche fossero sufficientemente descrittive di questa matrice così complessa. Negli ultimi dieci anni, l'analisi di numerosi campioni provenienti da diverse aree geografiche ha evidenziato un'estrema variabilità nella composizione della propoli in base alla vegetazione, alla stagione, alle condizioni ambientali e al luogo di raccolta. La standardizzazione di questo prodotto si è rivelata decisamente una sfida. La propoli rappresenta uno dei doni della natura

più affascinanti derivanti dall'impegno instancabile delle api, che tuttora stimola la ricerca e l'inventiva umana.

Bibliografia

- Ahn M., Kumazawa S., Hamasaka T., Bang K. e Nakayama T. 2004. «Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of Korea». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, fasc. 24: 7286–92.
- Araújo C., Oliveira R.D., Pinto-Ribeiro F. e Almeida-Aguiar C. 2022. «An Insight on the Biomedical Potential of Portuguese Propolis from Gerês». *Foods (Basel, Switzerland)* 11, fasc. 21: 3431.
- Bankova, V.S., Dyulgerov A., Popov S., Evstatieva L., Kuleva L., Pureb O. e Zamjansan Z. 1992. «Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: phenolic compounds and plant origin». *Apidologie* 23, fasc. 1: 79–85.
- Bankova V.S. 2005. «Chemical Diversity of Propolis and the Problem of Standardization». *Journal of Ethnopharmacology* 100, fasc. 1–2: 114–17.
- Bankova V.S., De Castro S.L. e Marcucci M.C. 2000. «Propolis: recent advances in chemistry and plant origin». *Apidologie* 31, fasc. 1: 3–15.
- Biagi M., Miraldi E., Figura N. e Giachetti D. 2009. «Antiradical Activity and in Vitro Inhibition of Helicobacter Pylori by Italian Red Wines». *Natural Product Communications* 4, fasc. 2: 255–60.
- Bonvehí J.S., Ventura Coll. F. e Escolà Jordà R. 1994. «The Composition, Active Components and Bacteriostatic Activity of Propolis in Dietetics». *Journal of the American Oil Chemists' Society* 71, fasc. 5: 529–32.
- Burdock G. A. 1998. «Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis)». *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 36, fasc. 4: 347–63.
- Castaldo S. e Capasso F. 2002. «Propolis, an Old Remedy Used in Modern Medicine». *Fitoterapia* 73 Suppl 1: S1-6.
- Cushnie T.P.T. e Andrew J.L. 2007. «Detection of Galangin-Induced

cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. *J Ethnopharmacol*, 101: 243-248.

- Formicki G., Greń A., Stawarz R., Zyśk B. e Anna Gał. 2013. “Metal Content in Honey, Propolis, Wax, and Bee Pollen and Implications for Metal Pollution Monitoring”. *Polish Journal of Environmental Studies*. 22(1):99-106.
- González-Martín M.I., Revilla I., Vivar-Quintana A.M. e E.V. Betances Salcedo. 2017. «Pesticide Residues in Propolis from Spain and Chile. An Approach Using near Infrared Spectroscopy». *Talanta* 165: 533–39.
- Greenaway W., Scaysbrook T. e Whatley F.R. 1990. «The Composition and Plant Origins of Propolis: A Report of Work at Oxford». *Bee World* 71, fasc. 3: 107–18.
- Gregory S.R., Piccolo N., Piccolo M.T., Piccolo M.S. e Hegggers J.P. 2002.«Comparison of Propolis Skin Cream to Silver Sulfadiazine: A Naturopathic Alternative to Antibiotics in Treatment of Minor Burns». *Journal of Alternative and Complementary Medicine (New York, N.Y.)* 8, fasc. 1: 77–83.
- Grovum W.L. e Gonzalez J.S. 1999. «Electrical Stimulation of the Medial Frontal Lobe Elicits a Pattern of Body Movements in Sheep». *Brain Research* 851, fasc. 1–2: 252–53.
- Huang D., Ou B. e Prior R.L. 2005. «The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, fasc. 6: 1841–56.
- Isla M.I., Paredes-Guzman J.F., Nieva-Moreno M.I., Koo H. e Park Y.K. 2005 «Some Chemical Composition and Biological Activity of Northern Argentine Propolis». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, fasc. 4: 1166–72.
- Jo S., Lee N., Hong S., Jung H.H. e Chae S. 2013. «Caffeic Acid Phenethyl Ester Inhibits Diesel Exhaust Particle-Induced Inflammation of

Human Middle Ear Epithelial Cells via NOX4 Inhibition». *The Annals of Otolaryngology, Rhinology, and Laryngology* 122, fasc. 9: 595–600.

- Koo H., Rosalen P.L., Cury J.A., Ambrosano G.M., Murata R.M., Yatsuda R., Ikegaki M., Alencar S.M. e Park Y.K. 2000. «Effect of a New Variety of *Apis Mellifera* Propolis on Mutans Streptococci». *Current Microbiology* 41, fasc. 3: 192–96.
- Koo H., Rosalen P.L., Cury J.A., Park Y.K. e Bowen W.H. 2002. «Effects of Compounds Found in Propolis on Streptococcus Mutans Growth and on Glucosyltransferase Activity». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 46, fasc. 5: 1302–9.
- Kosenko S. V. e Kosovich T.I. 1990. «[The treatment of periodontitis with prolonged-action propolis preparations (clinical x-ray research)]». *Stomatologiya* 69, fasc. 2: 27–29.
- Krol W., Scheller S., Shani J., Pietsz G. e Czuba Z. 1993. «Synergistic Effect of Ethanolic Extract of Propolis and Antibiotics on the Growth of *Staphylococcus Aureus*». *Arzneimittel-Forschung* 43, fasc. 5: 607–9.
- Lee Y.J., Liao P.H., Chen W.K. e Yang C.Y. 2000. «Preferential Cytotoxicity of Caffeic Acid Phenethyl Ester Analogues on Oral Cancer Cells». *Cancer Letters* 153, fasc. 1–2: 51–56.
- Marcucci M.C. 1995. «Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity». *Apidologie* 26, fasc. 2: 83–99.
- Martini S., D’Addario C., Colacevich A., Focardi S., Borghini F., Santucci A., Figura N. e Rossi C. 2009. «Antimicrobial Activity against *Helicobacter Pylori* Strains and Antioxidant Properties of Blackberry Leaves (*Rubus Ulmifolius*) and Isolated Compounds». *International Journal of Antimicrobial Agents* 34, fasc.1:50–59.
- Molyneux P., 2004. “The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity”. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2): 211-219.

- Moret S., Purcaro G. e Conte L.S. 2010. «Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Levels in Propolis and Propolis-Based Dietary Supplements from the Italian Market». *Food Chemistry* 122, fasc. 1 (settembre 2010): 333–38.
- Nostro A., Cellini L., Di Bartolomeo S., Cannatelli M.A., Di Campli E., Procopio F., Grande R., Marzio L. e Alonzo V. 2006. «Effects of Combining Extracts (from Propolis or Zingiber Officinale) with Clarithromycin on Helicobacter Pylori». *Phytotherapy Research: PTR* 20, fasc. 3: 187–90.
- Orsi R.O., José Maurício Sforcin J.M., Funari S., Fernandes A.J. e Bankova V.S. 2006. «Synergistic Effect of Propolis and Antibiotics on the Salmonella Typhi». *Brazilian Journal of Microbiology* 37, fasc. 2.
- Osmany C., Piccinelli A.L., Fernandez M.C., Hernández I.M., Rosado A. e Rastrelli L. 2007. «Chemical Characterization of Cuban Propolis by HPLC–PDA, HPLC–MS, and NMR: The Brown, Red, and Yellow Cuban Varieties of Propolis». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, fasc. 18: 7502–9.
- Pascual C., Gonzalez R. e Torricella R.G. 1994 «Scavenging Action of Propolis Extract against Oxygen Radicals». *Journal of Ethnopharmacology* 41, fasc. 1–2: 9–13.
- Pistoia A. 2017. *Apicoltura tecnica e pratica: Tutela dell'apiario e qualità dei suoi prodotti*. Verona: L'informatore Agrario.
- Popova M., Bankova V.S., Butovska D., Petkov V., Nikolova-Damyanova B., Sabatini A.G., Marcazzan G. e Bogdanov S. 2004. «Validated Methods for the Quantification of Biologically Active Constituents of Poplar-type Propolis». *Phytochemical Analysis* 15, fasc. 4: 235–40.

- Ricciardelli D.G. 1979. «L'origine géographique de la propolis». *Apidologie* 10, fasc. 3: 241–67.
- Salim A.S. 1993. «The Relationship between Helicobacter Pylori and Oxygen-Derived Free Radicals in the Mechanism of Duodenal Ulceration». *Internal Medicine (Tokyo, Japan)* 32, fasc. 5: 359–64.
- Samet N., Laurent C., Susarla S.M. e Samet-Rubinsteen N. 2007. «The Effect of Bee Propolis on Recurrent Aphthous Stomatitis: A Pilot Study». *Clinical Oral Investigations* 11, fasc. 2: 143–47.
- Serra G. 2002. *Apicoltura, il Sapore di una Storia. I prodotti dell'apicoltura*. Bologna: Ed. Leader II.
- Sforcin J. M. 2007. «Propolis and the Immune System: A Review». *Journal of Ethnopharmacology* 113, fasc. 1: 1–14.
- Siheri W., Alenezi S., Tusiimire J. e Watson D.G. 2017 «The Chemical and Biological Properties of Propolis». In *Bee Products - Chemical and Biological Properties*, a cura di José M Alvarez-Suarez, 137–78. Cham: Springer International Publishing.
- Takaisi-Kikuni N. e Schilcher N. 1994. «Electron Microscopic and Microcalorimetric Investigations of the Possible Mechanism of the Antibacterial Action of a Defined Propolis Provenance». *Planta Medica* 60, fasc. 03: 222–27.
- Tosi B., Donini A., Romagnoli C. e Bruni A. 1996 «Antimicrobial Activity of Some Commercial Extracts of Propolis Prepared with Different Solvents». *Phytotherapy Research* 10, fasc. 4: 335–36.
- Tringale M. 1990. *Produzione e uso della propoli in agricoltura, cosmesi e medicina*. Verona: Demetra s.r.l.
- Vynograd N., Vynograd I. e Sosnowski Z. 2000. «A Comparative Multi-Centre Study of the Efficacy of Propolis, Acyclovir and Placebo in the Treatment of Genital Herpes (HSV)». *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology* 7, fasc. 1: 1–6.

- Walgrave S.E., Warshaw E.M., e Glesne L.A. 2005. «Allergic Contact Dermatitis from Propolis». *Dermatitis: Contact, Atopic, Occupational, Drug* 16, fasc. 4: 209–15.
- Watson D.G., Peyfoon E., Zheng L., Lu D., Seidel V., Johnston B., Parkinson J.A. e Fearnley J. 2006. «Application of Principal Components Analysis to 1H-NMR Data Obtained from Propolis Samples of Different Geographical Origin». *Phytochemical Analysis* 17, fasc. 5: 323–31.
- Więckiewicz W., Miernik M., Więckiewicz M. e Morawiec T. 2013.«Does Propolis Help to Maintain Oral Health?» *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM* 2013: 351062.
- Woisky R.G. e Salatino A. 1998 «Analysis of Propolis: Some Parameters and Procedures for Chemical Quality Control». *Journal of Apicultural Research* 37, fasc. 2: 99–105.
- Wollenweber E. e Buchmann S.L. 1997. «Feral Honey Bees in the Sonoran Desert: Propolis Sources Other than Poplars (*Populus* Spp.)». *Zeitschrift Für Naturforschung C* 52, fasc. 7–8: 530–35.
- Zedan H., Hofny E.R.M. e Ismail S.A. 2009. «Propolis as an Alternative Treatment for Cutaneous Warts». *International Journal of Dermatology* 48, fasc. 11: 1246–49.