

Artigo

Estudo Químico e Potencial Antimicrobiano da Própolis Brasileira Produzida por Diferentes Espécies de Abelhas

Sousa, J. P. L. M.;* Pires, L. O.; Prudêncio, E. R.; Santos, R. F.; Sant'Ana, L. D.; Ferreira, D. A. S.; Castro, R. N.

Rev. Virtual Quim., 2019, 11 (5), 1480-1497. Data de publicação na Web: 25 de outubro de 2019

<http://rvq.sbq.org.br>

Chemical and Antimicrobial Potential Study of Brazilian Propolis Produced by Different Species of Bees

Abstract: Propolis is a natural resinous product collected by honey bees from different parts of plants in different geographic areas. The chemical composition of propolis is quite complex and varied, being directly related to the location, harvest season, species of bees and vegetation. The objective of this work was to evaluate the quality of ten brown propolis samples produced by the honey bees (*Apis mellifera*) obtained from the region of Japira (PR) and six geopropolis samples produced by two species of meliponíneos: three samples of *Melipona quadrifasciata anthioides* (Mandaçaia) and three of *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela), obtained from different regions of the state of Rio de Janeiro (RJ). The samples of propolis and geopropolis were evaluated and compared for the total phenol content, the total flavonoid content and the antiradical capacity performed by the DPPH, ABTS and the iron reducing capacity (FRAP). In addition, the comparison of UV-Vis spectral data profiles and antimicrobial activity against strains of *Staphylococcus aureus* were performed. The results obtained through the study of ethanolic extracts of brown propolis and geopropolis confirm the complexity and chemical difference of propolis. In addition, the multivariate analysis helped to discriminate propolis from different bee species, indicating that the chemical profile and antioxidant capacity of the extracts are influenced by the bee species.

Keywords: Propolis; geopropolis; antiradical capacity; antimicrobial activity.

Resumo

A própolis é um produto resinoso natural, coletada por abelhas melíferas de diferentes partes das plantas, em diferentes áreas geográficas. A composição química da própolis é bastante complexa e variada, estando diretamente relacionada com a localização, época da colheita, espécie das abelhas e vegetação. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade de dez amostras de própolis marrom produzidas pelas abelhas melíferas (*Apis mellifera*), obtidas da região de Japira (PR), e seis amostras de geoprópolis produzidas por duas espécies de meliponíneos: sendo três amostras de *Melipona quadrifasciata anthioides* (Mandaçaia) e três de *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela), obtidas de diferentes regiões do estado do Rio de Janeiro (RJ). As amostras de própolis e geoprópolis foram avaliadas e comparadas quanto aos teores de fenóis totais, os teores de flavonoides totais e, quanto à capacidade antirradicalar realizada pelos ensaios com DPPH, ABTS e pela capacidade redutora do ferro (FRAP). Além disso, foram realizadas a comparação dos perfis de dados espectrais por UV-vis e da atividade antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. Os resultados obtidos através do estudo dos extratos etanólicos das própolis e geoprópolis demonstram diferenças no perfil químico entre os diferentes tipos de amostra. Uma análise multivariada auxiliou na discriminação da própolis de diferentes espécies de abelhas, indicando que o perfil químico e a capacidade antioxidante dos extratos são influenciados pela espécie da abelha.

Palavras-chave: Própolis; geoprópolis; capacidade antirradicalar; atividade antimicrobiana.

* Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Química, CEP 23890-000, Seropédica-RJ, Brasil.

✉ julianaplms@hotmail.com

DOI: [10.21577/1984-6835.20190103](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190103)

Estudo Químico e Potencial Antimicrobiano da Própolis Brasileira Produzida por Diferentes Espécies de Abelhas

Juliana Paes Leme de Mello Sousa,^a Lucas de Oliveira Pires,^a Rafael Ferreira dos Santos,^a Edlene Ribeiro Prudêncio,^b Luiza D'Oliveira Sant'Ana,^a Dominique Aquino da Silva Ferreira,^a Rosane Nora Castro^a

^a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, CEP 23890-000, Seropédica-RJ, Brasil.

^b Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Departamento de Bioquímica, CEP 23890-000, Seropédica-RJ, Brasil.

* julianaplms@hotmail.com

Recebido em 30 de setembro de 2019. Aceito para publicação em 30 de setembro de 2019

1. Introdução
2. Parte Experimental
3. Resultados e Discussões
4. Conclusão

1. Introdução

A própolis é uma mistura complexa de substâncias que as abelhas coletam de diversas flores, brotos, folhas ou exsudados disponíveis na flora local. As substâncias coletadas são manipuladas dentro da colmeia com o acréscimo de secreções salivares e cera produzida pelas abelhas, originando um sólido resinoso e com baixa solubilidade em água. A coloração, odor e a composição da própolis são complexas e variam em função da vegetação da região, estação do ano e características genéticas das abelhas.^{1,2}

A maior parte do consumo e da exportação da própolis no Brasil é produzida pelas abelhas melíferas africanizadas, espécie *Apis mellifera*.^{3,4} Atualmente esta espécie está

presente em todo o território devido a capacidade de se adaptar a diferentes ambientes e condições, facilitando a sua produção em diferentes biomas brasileiros. A própolis produzida pelas abelhas melíferas é a mais estudada, e o seu interesse está relacionado, principalmente, com as propriedades terapêuticas descritas na literatura, tais como atividade antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, antifúngica, antioxidante, antineoplásica e cicatrizante.⁵⁻¹²

Levando-se em consideração a diversidade da flora e das espécies de abelha presentes no Brasil, além da época de coleta, a própolis brasileira apresenta uma composição diversificada.^{11,13} Assim, uma própolis pode ser diferente da outra por conta de sua composição química, propriedades biológicas, cor e odor. A composição química é formada por diversas substâncias, mas o que mais tem

chamado atenção são os polifenóis, destacando-se os flavonoides e ácidos fenólicos.^{11,12} Estudos apontam para boa correlação entre o perfil de substâncias fenólicas e as propriedades biológicas da própolis, fazendo com que a determinação qualitativa e quantitativa desse grupo de substâncias seja utilizada como parâmetro de qualidade para a caracterização desse produto natural.¹⁴

Os meliponíneos, que também conhecidos como abelhas nativas, sociais e sem ferrão, ocupam grande parte das regiões de clima tropical no planeta, sendo um grande e importante grupo de espécies de abelhas existentes no Brasil. Estas espécies produzem cera, mel e geoprópolis (uma variedade específica da própolis que é constituída por resina vegetal misturada a terra e/ou barro, gerando um produto com propriedades diferenciadas). Os meliponíneos são abelhas de baixa produção de mel e própolis, porém são muito úteis como agentes polinizadores em diversas culturas agrícolas por conta do baixo custo de manutenção das colmeias.¹⁵

Pouco se explora sobre a composição química e as propriedades biológicas da geoprópolis, dificultando o estabelecimento de um padrão de qualidade para esse produto natural. A literatura destaca forte potencial antimicrobiano para geoprópolis de diversas espécies de meliponíneos, e entre as principais classes de substâncias identificadas estão terpenoides, ácidos terpênicos, álcoois, ácidos alifáticos e seus ésteres, flavonoides, saponinas e ácidos aromáticos.¹⁶ A complexidade das diferentes espécies de abelhas adiciona uma variável a mais a ser considerada, principalmente por conta da falta de dados consistentes sobre a origem floral utilizada na elaboração da geoprópolis. Dessa forma, a geoprópolis se comporta como uma matriz ainda mais complexa que a própolis produzida pelas abelhas melíferas.

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade da própolis marrom produzida pelas abelhas melíferas (*Apis mellifera*), obtidas diretamente de produtores locais na região de Japira (PR), e da geoprópolis produzida por duas espécies de

meliponíneos: *Melipona quadrifasciata anthoioides* (Mandaçaia) e *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela) do Rio de Janeiro (RJ). As amostras de própolis e geoprópolis foram comparadas avaliando-se parâmetros quantitativos, como os teores de fenóis totais, os teores de flavonoides e a capacidade antirradicalar. Além disso, foram realizadas a comparação dos perfis de dados espectrais por UV-vis e da atividade antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

2. Parte Experimental

2.1. Amostragem

As amostras de própolis e geoprópolis foram congeladas, pulverizadas em liquidificador semi-industrial, armazenadas em frascos âmbar e mantidas em freezer até o momento das análises. Na Tabela 1 são apresentadas as informações sobre as amostras estudadas neste trabalho.

2.2. Preparo dos extratos etanólicos

Os extratos de própolis marrom foram obtidos a partir de 2,00 g da amostra pulverizada por maceração dinâmica com 50 mL de etanol (P.A. 95 %) a temperatura ambiente, durante 48h.¹¹ Após esse período os extratos foram mantidos em freezer *overnight* para a precipitação de ceras contidas nas amostras. Em seguida, filtrou-se à pressão reduzida e evaporou-se o solvente em evaporador rotativo até obtenção dos extratos secos da própolis marrom (EEP-1 – EEP-10).

Os extratos de geoprópolis foram obtidos a partir de 3,00 g de cada uma das amostras com 150 mL de etanol (P.A., 95 %) em extrator Soxhlet, durante 6 h. Após esse período, o solvente foi evaporado em evaporador rotativo até obtenção dos extratos secos: EEGP-M1 – EEGP-M3 para as geoprópolis de *Melipona quadrifasciata* (Mandaçaia) e EEGP-

U1 – EEGP-U3 para as de *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela).

2.3. Análise espectrofotométrica na região do UV-VIS

Os espectros no UV-Vis foram obtidos por varredura no intervalo de 200 a 500 nm em espectrofotômetro UV-Mini 1240 (Shimadzu), com cubeta de quartzo de caminho ótico de 4,0 cm. Soluções em etanol (grau espectroscópico) dos extratos das amostras de própolis e geoprópolis foram preparadas na concentração de 1,0 mg.mL⁻¹.¹⁷

2.4. Determinação do teor de fenóis totais

A quantificação de fenóis totais seguiu o procedimento descrito na literatura por Salgueiro e Castro, 2016.¹¹ Os extratos de própolis marrom e geoprópolis foram solubilizados em metanol grau espectroscópico (1,00 mg.mL⁻¹) e uma alíquota de 50 µL dessa solução foi misturada com 2,5 mL de uma solução 1:10 do reagente de Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de uma solução de Na₂CO₃ (4 %). A mistura reacional foi incubada por 5 minutos a 50 °C, e a absorbância foi medida contra um branco (água ultrapura) a 760 nm. A curva analítica foi construída com seis níveis de concentração utilizando-se soluções padrão de ácido gálico (VETEC, 99 %) em metanol com concentrações entre 25 e 1000 µg.mL⁻¹ ($Y = 0,1291x + 0,12497$; $R = 0,999$). O teor de fenólico total foi expresso em mg E_{GA}.100 mg⁻¹ e todas as análises foram feitas com três repetições.

Tabela 1. Dados das amostras de própolis e de geoprópolis estudadas neste trabalho

Amostras	Espécie da Abelha	Origem Geográfica	Data de Coleta
P1	<i>Apis mellifera</i>	Japira – PR	Novembro - 2013
P2	<i>Apis mellifera</i>	Japira – PR	Novembro - 2013
P3	<i>Apis mellifera</i>	Japira – PR	Novembro - 2013
P4	<i>Apis mellifera</i>	Japira – PR	Novembro - 2013
P5	<i>Apis mellifera</i>	Japira – PR	Novembro - 2013
P6	<i>Apis mellifera</i>	Japira – PR	Novembro - 2013
P7	<i>Apis mellifera</i>	Japira – PR	Novembro - 2013
P8	<i>Apis mellifera</i>	Japira – PR	Novembro - 2013
P9	<i>Apis mellifera</i>	Japira – PR	Novembro - 2013
P10	<i>Apis mellifera</i>	Japira – PR	Novembro - 2013
M1	<i>Melipona quadrifasciata</i>	Bosque da Barra da Tijuca -RJ	Abril – 2015
M2	<i>Melipona quadrifasciata</i>	Bosque da Barra da Tijuca -RJ	Abril – 2015
M3	<i>Melipona quadrifasciata</i>	Jacarepaguá – RJ	Maió – 2015
U1	<i>Melipona rufiventris</i>	Bosque da Barra da Tijuca -RJ	Março – 2016
U2	<i>Melipona rufiventris</i>	Bosque da Barra da Tijuca -RJ	Março – 2016
U3	<i>Melipona rufiventris</i>	Bosque da Barra da Tijuca -RJ	Março – 2016

2.5. Determinação do teor de flavonoides totais

Em um balão volumétrico (10,00 mL), uma alíquota de 400 μL dos extratos de própolis e geoprópolis (1,00 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) foi misturada com 200 μL de uma solução metanólica de AlCl_3 (2 % p/v). Após o balão ser avolumado com metanol espectroscópico, a mistura foi incubada a temperatura ambiente durante 30 min e a leitura realizada a 425 nm contra um branco (metanol grau espectroscópico). A curva analítica foi construída com seis níveis de concentração utilizando-se soluções padrão de quercetina (SIGMA, 98 %) em metanol com concentrações entre 1 a 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($Y = 0.06553 + 0.04078x$; $R = 0,999$). O teor total de flavonoides foi expresso em $\text{mg E}_Q\cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato e as análises foram feitas com três repetições.¹¹

2.6. Determinação da capacidade antioxidante pelo sequestro de radicais DPPH

Uma alíquota de 71 μL de todos os extratos (10 – 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) foi misturada com 29 μL de uma solução 0,3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de DPPH recém preparada em metanol grau espectroscópico. A mistura foi incubada a temperatura ambiente ao abrigo da luz durante 30 min, e após esse tempo a leitura da absorbância foi realizada a 517 nm utilizando o leitor de microplacas ELISA 680 (Bio-Rad, Brasil). A capacidade antirradicalar foi expressa através do CE_{50} ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), que corresponde à concentração necessária de amostra para diminuir em 50 % a absorbância inicial do radical DPPH.¹¹ O cálculo do CE_{50} foi conduzido a partir de uma regressão linear utilizando os dados colorimétricos obtidos a partir da seguinte equação:

$$\text{AA\%} = 100 - \frac{\text{AbsA} - \text{AbsB}}{\text{AbsC}} \times 100$$

Onde AbsA representa a absorbância da amostra com a solução do radical DPPH, AbsB representa a absorbância do branco para cada ensaio, e AbsC representa o controle negativo do ensaio.

2.7. Determinação da capacidade antioxidante pela captura do radical-cátion (ABTS⁺)

Uma alíquota de 50 μL dos extratos de própolis marrom e geoprópolis (1,00 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) foi misturada com 5,0 mL do reagente ABTS. A mistura foi incubada ao abrigo da luz durante 6 minutos, e as soluções foram então lidas a 734 nm utilizando como o branco álcool etílico absoluto. A curva analítica foi construída com seis níveis de concentração utilizando-se soluções padrão de Trolox (SIGMA, 98 %) em etanol com concentrações entre 0,001 a 2,40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($Y = -26,37778x + 0,65164$; $R = -0,9997$). Os resultados foram expressos em

$\text{mmol TE}_{\text{Trolox}}\cdot 100 \text{mg}^{-1}$ de extrato e as análises foram conduzidas com três repetições.¹¹

2.8. Determinação da capacidade antioxidante pelo método de redução do íon férrico (FRAP)

Uma alíquota de 0,5 mL dos extratos de própolis marrom e geoprópolis (1,00 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) foi misturada com 4,5 mL do reagente FRAP e a mistura foi incubada durante 10 minutos a 37 °C. A leitura foi determinada a 593 nm, tendo como branco a água ultrapura. A curva analítica foi construída com seis níveis de concentração utilizando-se soluções padrão de $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (VETEC) em água com concentrações entre 100 a 1000 μM ($Y = 0,0018x + 0,00107$; $R = 0,99961$). Os resultados foram expressos em $\text{mmol Fe(II)}\cdot 100 \text{mg}^{-1}$ de extrato e as análises foram conduzidas com três repetições.¹¹

2.9. Atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus*

A atividade antimicrobiana dos extratos de própolis contra *S. aureus* foi determinada de acordo com o método de difusão em ágar descrito por Kirby e Bauer (1966), com modificações.¹⁸

A cepa de *S. aureus* (ATCC 12692) foi mantida congelada a -20 °C em caldo BHI adicionado de 15 % (v/v) de glicerol estéril. No momento da utilização a ativação da cultura foi realizada por duas transferências sucessivas em caldo BHI seguida de inoculação por alçada em ágar PCA. Após incubação das placas a 36 °C por 24h, foi preparada uma suspensão de células em 3mL de solução salina peptonada de forma a conter aproximadamente 2×10^8 ufc.mL⁻¹, cuja turbidez equivale ao tubo nº5 da escala de Mc Farland. Esta suspensão foi diluída 100 vezes e

0,1 mL foi inoculada de maneira confluenta em 3 direções, em placas de ágar Mueller Hinton com auxílio de uma alça Drigalsky.

Com auxílio de furador estéril, poços com diâmetro de 0,75 cm foram perfurados e, em cada poço foram inoculados 50 µL de cada extrato de própolis a 10µg.mL⁻¹. Discos contendo ampicilina 10µg.mL⁻¹ foram utilizados para comparação e o solvente etanol 95 % como controle. As placas foram incubadas a 36 °C por 20-24 horas, quando então os diâmetros das zonas claras de inibição de crescimento ao redor de cada poço foram medidos com o auxílio de um paquímetro.

O halo de inibição induzido pelos extratos testados foi comparado com o controle positivo do antibiótico ampicilina. Todos os experimentos foram realizados em três repetições. A porcentagem de inibição foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de Inibição} = \frac{(\text{Média do halo de inibição da amostra} - \text{halo do solvente}) \times 100}{\text{Média do halo de inibição do antibiótico}}$$

2.10. Análise estatística

Os resultados obtidos para as análises realizadas (teor de fenóis totais, flavonoides totais e capacidade antioxidante) foram utilizados como variáveis estatísticas em uma matriz de correlação de Pearson através do *software* BioEstat 5.0 (Amazônia, Brasil). A Análise das Componentes Principais (ACP) foi utilizada como ferramenta de análise multivariada de dados, empregando-se o *software* The Unscrambler X 10.3 (Oslo, Noruega) e Origin 2018b (Massachusetts, EUA). Para esta análise, as variáveis foram autoescaladas e centradas na média, e o parâmetro estatístico utilizado na realização da PCA foi a validação cruzada.

3. Resultados e Discussões

3.1. Extração das amostras de própolis marrom e geoprópolis

Atualmente, a própolis é muito usada na forma de extrato por trazer diversos benefícios à saúde humana, já que se trata de um antibiótico natural. Existem várias metodologias descritas na literatura para o preparo de extratos de própolis. Um dos métodos considerado o mais adequado para a análise química e biológica de própolis é o preparo de extratos etanólicos por maceração. Alguns trabalhos tem demonstrado que os extratos etanólicos são os que apresentam maior eficiência na extração de substâncias fenólicas.^{19,20}

Neste trabalho, as amostras de própolis marrom (*Apis mellifera*) foram preparadas

através de maceração dinâmica por 48 h a temperatura ambiente. Já as amostras de geoprópolis (*Melipona quadrifasciata anthioides* e *Melipona rufiventris*) foram submetidas à extração em Soxhlet por 6 h, com a finalidade de melhorar o rendimento das extrações para estas matrizes. O etanol foi o solvente escolhido para ambos os preparos, pois além de ser o solvente de escolha no preparo de tinturas comerciais, que é a própolis consumida popularmente, a temperatura de ebulição do solvente (78 °C) interfere pouco na estabilidade das substâncias polifenólicas, que podem ser degradadas, polimerizadas ou ainda oxidadas quando submetidas a altas temperaturas, causando redução dos teores de fenólicos totais.¹⁹

Avaliando a extração da geoprópolis, os rendimentos variaram de 383,91 mg (12,8 % m/m, EEGP-U2) a 1317,10 mg (44,0 % m/m, EEGP-M2). Já para a extração de própolis marrom, os rendimentos variaram de 243,70 mg (12,18 % m/m, EEP-9) a 499,2 mg (24,96 % m/m, EEP-7). Não existe uma metodologia padrão para extração da própolis, e o mesmo se aplica a geoprópolis, e o método escolhido geralmente atende a características específicas de cada amostra. A técnica de extração influencia diretamente no perfil químico da própolis, e a falta de padronização torna mais difícil o trabalho de comparação e avaliação da identidade da própolis.

Santos e colaboradores prepararam extratos aquosos e etanólicos (70 %) de geoprópolis produzida por abelhas das espécies *M. quadrifasciata* e *T. angustula*, no estado de Santa Catarina.²¹ O extrato aquoso foi obtido por maceração a 60°C durante 2h, e os rendimentos foram de 2,1 % para a geoprópolis de *T. angustula* e de 5,0 % para *M. quadrifasciata*. Já os extratos etanólicos foram preparados por maceração dinâmica durante 24h, e os rendimentos foram respectivamente de 6,2 e 24,4 %, valores inferiores aos obtidos para os extratos

etanólicos de geoprópolis deste estudo. Além disso, a baixa solubilidade da própolis em água dificulta a solubilização de seus princípios ativos, fazendo com que o extrato aquoso apresente rendimento inferior ao extrato etanólico.

Freires e colaboradores prepararam extratos hidroalcóolicos (80 %) de própolis do tipo 3 (Sul do Brasil) e do tipo 13 (Nordeste, própolis vermelha) durante 30 minutos a 70 °C.⁷ A técnica utilizada foi maceração estática, com auxílio de temperatura (70 °C), e o rendimento para a própolis marrom (tipo 3) foi de 58,46 %, superior ao apresentado neste trabalho, enquanto o rendimento do extrato etanólico de própolis vermelha foi de 42,62 % em massa.

3.2. Comparação dos extratos por espectroscopia de absorção no UV-VIS

A própolis possui diversas classes de substâncias, principalmente polifenólicas. Um parâmetro físico-químico muito utilizado para avaliar o perfil e a qualidade da própolis é através do seu espectro de absorção nas regiões do ultravioleta e visível (UV-VIS), parâmetro exigido inclusive pela legislação brasileira.²² Substâncias polifenólicas (flavonoides e ácidos fenólicos) são as principais responsáveis por diferentes propriedades biológicas da própolis e absorvem com considerável intensidade na região de 250 até 350 nm.¹⁷ Para comparar a variabilidade das amostras de própolis e geoprópolis foram adquiridos espectros na região do UV-Vis.

Os perfis foram distintos entre as amostras de própolis e geoprópolis. A Figura 1 apresenta a sobreposição dos espectros obtidos para os seis extratos de geoprópolis (EEGP) e os dez extratos de própolis marrom (EEP).

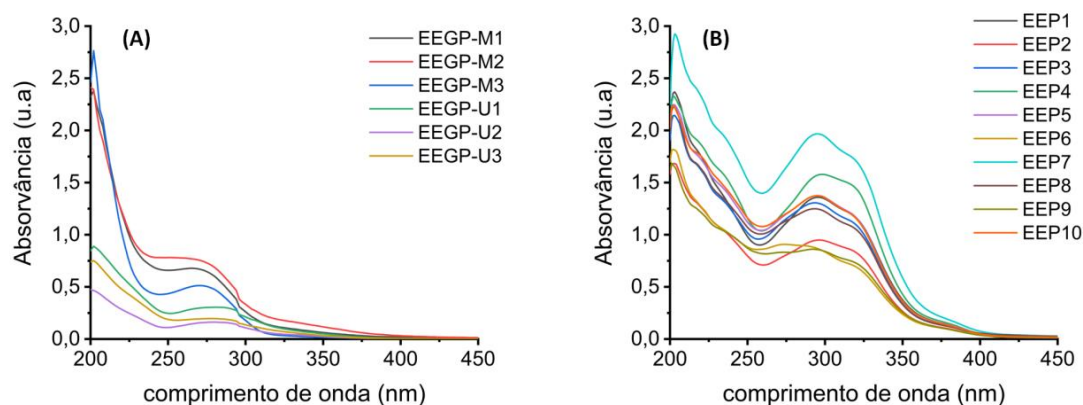


Figura 1. Espectros de absorção no UV-VIS: (A) Extratos etanólicos de geoprópolis (EEGP) e (B) Extratos de própolis marrom (EEP)

Os perfis das curvas no UV-Vis foram semelhantes para amostras de geoprópolis independente da espécie da abelha. No entanto, foram observadas diferenças de intensidade nos máximos de absorção das bandas indicando variação de concentração nas substâncias responsáveis pelos dados espectrais no UV-Vis (Figura 1). Foi possível observar que os extratos de geoprópolis produzido pelas abelhas Mandaçaia e Uruçu-amarela apresentam máximo de absorção entre a 270 e 285 nm. O máximo de absorção em 275 nm pode ser atribuído à presença de derivados do ácido benzoico, como ácido gálico, *para*-hidroxibenzóico. A ausência de bandas intensas com máximos de absorção em torno de 280, 330 e 340 nm pode indicar a ausência de derivados de ácidos cinâmicos (como ácidos cafeoilquínicos) e de flavonoides (como canferol, apigenina, canferida), comuns em própolis de *Apis mellifera*.¹¹

Torres e colaboradores atribuíram o máximo de absorção em 275 nm à presença de derivados de ácido gálico e taninos hidrolisáveis do ácido gálico em geoprópolis da região de Prudentópolis, Paraná.^{23,24}

A própolis marrom, produzida por abelhas melíferas, apresenta também para seus extratos etanólicos semelhança quanto ao perfil de absorção no UV-Vis, apresentando máximo de entre 290 e 330 nm, região onde derivados de ácidos cinâmicos, tais como ácidos cafeoilquínicos e flavonoides (como

canferida, canferol, pinobanksina) são frequentemente identificados.^{11,24}

A diferença na curva de absorção está diretamente relacionada com as substâncias que compõem a matriz natural, e a observação dessas diferenças reforça que a variabilidade na espécie das abelhas está diretamente associada ao hábito e a preferência por diferentes espécies vegetais obtidas para a elaboração da própolis marrom e da geoprópolis, mas o mecanismo envolvido por trás da sinalização existente entre as espécies vegetais e as espécies de abelhas ainda não está totalmente descrito na literatura.

3.3. Teor de fenóis e flavonoides totais e capacidade antioxidante *in vitro* dos extratos de geoprópolis e própolis marrom

A qualidade da própolis e geoprópolis produzida por diferentes espécies de abelhas foi avaliada segundo parâmetros quantitativos, como os teores de fenóis totais, de flavonoides e pela capacidade antioxidante realizada por três métodos: captura do radical DPPH, captura do radical-cátion- ABTS^{•+} e pelo método de redução do ferro – FRAP (Tabela 2).

Na Tabela 2 estão os resultados dos teores de fenólicos totais (TP), teores de flavonoides

totais (TF) e capacidade antioxidante dos extratos etanólicos de geoprópolis (EEGP) e própolis marrom (EEP), avaliada pelos ensaios FRAP, ABTS e DPPH.

Tabela 2. Teores de fenóis totais (TP), flavonoides totais (TF) e da capacidade antioxidante dos extratos etanólicos expressos como valores médios em seus desvios padrão

Amostras	TP ^a	TF ^b	Capacidade Antioxidante		
			FRAP ^c	ABTS ^d	DPPH-CE ₅₀ ^e
EEGP-U1	6,32 ±0,000	3,26 ±0,000	*n.d	129,58 ±0,010	67,38 ±0,240
EEGP-U2	3,72 ±0,000	3,58 ±0,000	*n.d	96,82 ±0,040	86,34 ±0,520
EEGP-U3	3,64 ±0,050	2,99 ±0,000	*n.d	104,74 ±0,040	84,21 ±0,860
EEGP-M1	0,17 ±0,000	0,68 ±0,000	*n.d	10,96 ±0,030	800,31 ±1,940
EEGP-M2	1,12 ±0,010	1,70 ±0,000	*n.d	13,38 ±0,030	310,45 ±1,920
EEGP-M3	0,32 ±0,000	0,28 ±0,000	*n.d	5,04 ±0,000	1538,2 ±0,130
EEP-1	5,15±0,016	4,07±0,001	212,18±0,001	102,48±0,016	77,3±2,120
EEP-2	4,71±0,014	4,40±0,000	207,55±0,011	103,76±0,003	63,74±5,230
EEP-3	3,89±0,011	6,36±0,002	250,15±0,010	106,82±0,002	11,46±2,430
EEP-4	6,47±0,007	6,53±0,001	294,78±0,009	97,37±0,019	28,46±0,460
EEP-5	5,83±0,008	6,89±0,002	237,55±0,006	97,37±0,017	43,9±0,440
EEP-6	2,06±0,012	4,64±0,004	232,37±0,002	81,29±0,002	58,88±4,360
EEP-7	3,16±0,020	5,33±0,001	285,52±0,008	85,38±0,007	33,68±2,150
EEP-8	3,52±0,002	4,72±0,001	274,22±0,004	85,76±0,005	31,9±0,530
EEP-9	0,89±0,009	3,50±0,001	308,29±0,013	67,76±0,003	22,19±1,340
EEP-10	9,88±0,003	4,59±0,000	347,20±0,006	88,79±0,001	35,41±0,330

EEGP-U – Extrato etanólico geoprópolis Uruçu-amarela; EEGP-M- Extrato etanólico geoprópolis Mandaçaia; EEP- Extrato etanólico própolis *Apis mellifera*; FRAP - Redução do íon férrico; ABTS - Sequestro do radical-cátion (ABTS⁺); DPPH – Sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril hidrazil; a- mg E_{AG} 100mg⁻¹ de extrato; b – mg E_{QE} 100mg⁻¹ de extrato; c- mmol Fe(II) 100mg⁻¹ de extrato; d- mmol E_{TrOlox} 100mg⁻¹ de extrato; e- µg mL⁻¹, *nd= valores fora do limite de detecção, n=3

Entre os extratos etanólicos de geoprópolis, a variação no teor de fenólicos totais (TP) foi de 0,17 a 6,32 mg E_{AG}.100mg⁻¹ de extrato, enquanto a variação no teor de flavonoides (TF) ficou entre 0,28 e 3,58 mg E_Q.100mg⁻¹ de extrato. Os teores de fenóis totais (3,64 – 6,32 mg E_Q.100mg⁻¹ de extrato) e de flavonoides totais (2,99 – 3,58 mg E_Q.100mg⁻¹ de extrato) foram superiores para geoprópolis de Uruçu-amarela em comparação ao de geoprópolis de Mandaçaia.

(0,17 – 1,12 mg E_Q.100mg⁻¹ de extrato; 0,28 – 1,70 mg E_Q.100mg⁻¹ de extrato). Todas as geoprópolis não apresentaram capacidade antirradicalar expressa em FRAP. Quanto à capacidade antioxidante pelo método de captura de radicais-cátion ABTS, bem como expresso em CE₅₀, as geoprópolis de Mandaçaia (EEGP-M) apresentaram valores bem inferiores quando comparados as amostras de Uruçu-amarela. O extrato EEGP-U1 apresentou melhor capacidade

antirradicalar em ABTS (129,58 mmol $E_{\text{trolox}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato) e em CE_{50} , (67,38 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), enquanto o extrato EEGP-M3 apresentou valores inferiores (5,04 mmol $E_{\text{trolox}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato e 1538,2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectivamente).

Santos e colaboradores avaliaram o extrato etanólico de geoprópolis produzida no Mato Grosso do Sul pelas abelhas *M. quadrifasciata* pelo teor de substâncias fenólicas e pela capacidade antioxidante.²¹ O teor de fenólicos e flavonoides totais foram respectivamente de 11,87 mg $E_{\text{AG}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato, e 2,54 mg $E_{\text{AG}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$. Os extratos de geoprópolis avaliados neste trabalho apresentaram, em geral, teores de flavonoides mais elevados. O CE_{50} obtido frente ao radical DPPH foi de 28,9 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, mostrando-se mais ativo do que os extratos avaliados neste trabalho.

Os extratos hidroalcoólicos da geoprópolis produzida por *M. quadrifasciata* e *T. angustulana* região de Blumenau (Santa Catarina) foram analisados de acordo com o teor de substâncias fenólicas. Neste estudo houve uma considerável diferença para o teor de fenólicos totais entre as duas espécies, sendo 8,24 mg $E_{\text{AG}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato para a geoprópolis de *M. quadrifasciata* e 3,49 mg $E_{\text{AG}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato para *T. angustula*. Já o teor de flavonoides totais apresentou valores similares, sendo 0,079 mg $E_{\text{Q}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ em *M. quadrifasciata* e 0,082 mg $E_{\text{Q}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ em *T. angustula*, valores inferiores aos encontrados para flavonoides neste trabalho.²⁵

Ferreira e colaboradores avaliaram o teor de substâncias fenólicas e a capacidade antioxidante da geoprópolis produzida por *Scaptotrigona postica*, do Rio Grande do Norte.²⁶ O método de extração foi Soxhlet em etanol 96 %, durante 6 h. O teor de fenólicos totais foi de 11,15 mg $E_{\text{AG}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato, o teor de flavonoides totais foi de 9,85 mg $E_{\text{Q}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato e o CE_{50} foi de 74,10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Esses resultados também foram superiores aos resultados apresentados neste trabalho para os extratos etanólicos de geoprópolis.

Em estudos realizados por Araújo e colaboradores acerca da composição química de geoprópolis de *M. fasciculata* e *M. scutelarris* de duas regiões do Tocantins, foi observado que os teores de fenóis totais variaram entre 63,13 – 62,00 mg $E_{\text{AG}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$, e o CE_{50} para a capacidade antirradicalar variou entre 50,23 – 29,81 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, sendo também superiores ao encontrados nesse estudo.²⁷

Para as amostras de própolis marrom o teor de fenólicos totais (TP) variou de 0,89 $E_{\text{AG}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato (EEP-9) a 9,88 mg $E_{\text{AG}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato (EEP-10), enquanto o teor de flavonoides totais (TF) variou de 3,50 mg $E_{\text{Q}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato (EEP-9) a 6,38 mg $E_{\text{Q}} \cdot 100\text{mg}^{-1}$ de extrato (EEP-5).

A legislação vigente no Brasil estabelece como requisitos de qualidade para os extratos de própolis um teor mínimo de flavonoides de 0,25 % (m/m) e de fenóis totais de 0,50 % (m/m).²² Todos os extratos etanólicos de própolis marrom analisados encontram-se de acordo com os parâmetros estabelecidos para teor de fenólicos, variando de 0,89 % a 9,88 % (m/m), e para o teor de flavonoides, variando de 3,5 % a 6,89 % (m/m). Observa-se que os teores de flavonoides para todos os extratos de geoprópolis está de acordo com os parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira. Porém, duas amostras de geoprópolis de Mandaçaia não estão de acordo com o padrão de qualidade determinado pela legislação brasileira para teor de fenóis totais, a amostra EEGP-M1 (0,17 % m/m) e a EEGP-M3 (0,32 % m/m). Contudo, deve-se destacar que os parâmetros de qualidade de própolis foram estabelecidos para própolis de *Apis mellifera* e que a geoprópolis de outras abelhas apresenta características diferentes, necessitando ajustes na legislação vigente para a identidade e qualidade de própolis de abelhas sem ferrão.

Os resultados apresentados neste trabalho foram inferiores quanto ao conteúdo de fenóis totais, porém semelhantes quanto ao teor de flavonoides quando comparados aos resultados observados por Machado e colaboradores para extratos etanólicos de

oito amostras de própolis de diferentes regiões do Brasil: vermelha (Alagoas e Sergipe), verde (Paraná e Minas Gerais) e marrom (Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná).²⁸ Neste trabalho o conteúdo de fenóis totais dos extratos de própolis verde variou entre 16,09 – 18,17 mg $E_{AG} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato, para própolis marrom variou entre 11,09 – 11,70 mg $E_{AG} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato e para própolis vermelha variou entre 19,87 – 30,03 mg $E_{QE} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato. Quanto aos teores de flavonoides variaram de 2,55 – 4,68 mg $E_Q \cdot 100 mg^{-1}$ de extrato para a própolis verde, de 2,44 – 2,79 mg $E_Q \cdot 100 mg^{-1}$ de extrato para própolis marrom e de 5,81 – 5,76 mg $E_Q \cdot 100 mg^{-1}$ de extrato para própolis vermelha.

Em estudos realizados por Coelho e colaboradores para cinco amostras de própolis verde de Minas Gerais e onze amostras de própolis marrom de diferentes regiões do Brasil (Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul), foi observado que a variação de fenólicos totais para extratos etanólicos de própolis verde foi de 11 % a 31 % (m/m) e de 8 % a 19 % (m/m) para extratos etanólicos de própolis marrom; quanto ao teor de flavonoides variaram de 1,2 % a 3,5 % (m/m) para própolis verde e de 0,0 % a 2,6 % (m/m) para própolis marrom.²⁹ Os valores de fenólicos totais neste trabalho foram inferiores comparados aos estudados por Coelho e colaboradores, porém os valores de flavonoides foram superiores aos dos extratos etanólicos de própolis verde e marrom.

A capacidade antioxidante dos extratos de própolis marrom (EEP) se mostrou superior à capacidade antioxidante dos extratos de geoprópolis tanto pelo método de captura do radical-cátion (ABTS) quanto pelo método de captura dos radicais DPPH. Para os extratos etanólicos de própolis marrom, a variação para a capacidade antioxidante em ABTS foi de 67,76 mmol $E_{trolox} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato (EEP-9) a 106,82 mmol $E_{trolox} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato (EEP-3), enquanto em CE_{50} a variação foi de 11,46 $\mu g \cdot mL^{-1}$ para o extrato EEP-3 e de 77,3 $\mu g \cdot mL^{-1}$ para o extrato EEP-1.

O método de redução do íon férrico avalia a capacidade antioxidante através da transferência de elétrons entre os componentes do extrato que são capazes de reduzir o íon $Fe(III)$, apresentando bons resultados para o extrato etanólico de própolis marrom, que variou de 207,55 mmol $E_{Fe(II)} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato (EEP-2) a 347,20 mmol $E_{Fe(II)} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato (EEP-10). Os extratos de geoprópolis, entretanto, não apresentaram atividade frente a esse método nas concentrações testadas.

Cottica e colaboradores avaliaram extratos hidroalcoólicos de própolis verde (Maringá, Paraná) através do teor de substâncias fenólicas e atividade antioxidante, em que os valores para fenóis totais (TP) variaram entre 4,8- 8,7 mg $E_{AG} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato, enquanto para flavonoides totais (TF) a variação ficou entre 1,0 – 2,6 mg $E_Q \cdot 100mg^{-1}$ de extrato.³⁰ A capacidade antioxidante em CE_{50} variou entre 47,00 – 160,00 $\mu g \cdot mL^{-1}$, enquanto o ensaio com FRAP mostrou valores entre 52,8 – 136,5 $E_{Fe(II)} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato. Esses resultados (TP, TF e DPPH e FRAP) foram inferiores aos apresentados neste trabalho para própolis marrom.

Bittencourt e colaboradores analisaram o teor de fenóis totais (TP) e o potencial antioxidante (DPPH) de extratos etanólicos de própolis verde e marrom brasileira.³¹ Entre os extratos de própolis verde, a capacidade antirradicalar em CE_{50} variou entre 21,50 – 78,77 $\mu g \cdot mL^{-1}$ e o teor de fenóis totais variou entre 3,88- 20,43 mg $E_{AG} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato, enquanto para própolis marrom o CE_{50} variou de 31,72 – 60,53 $\mu g \cdot mL^{-1}$ e TP de 3,19 – 6,25 mg $E_{AG} \cdot 100mg^{-1}$ de extrato. Com base nesses resultados, os autores demonstraram a existência de uma correlação positiva entre atividade antioxidante e o conteúdo fenólico.

Quanto ao teor de fenóis totais, teor de flavonoides e a capacidade antirradicalar, a maioria dos extratos de própolis de *Apis mellifera* apresentaram resultados muitos superiores aos encontrados para geoprópolis de abelhas nativa. Isto corrobora a necessidade de promover estudos sobre a composição química de geoprópolis, bem como a necessidade de estabelece

parâmetros de identidade e qualidade com uma legislação própria para os produtos apícolas de outras espécies de abelhas.

3.4. Atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é um microrganismo com importância clínica por colonizar a pele e mucosas, sendo frequentemente causador de infecção em feridas.³² Devido a crescente preocupação

com a resistência a antibióticos, desenvolvida por bactérias, a busca de produtos naturais com atividade antimicrobiana tem recebido especial atenção.

Todos os extratos de própolis testados foram efetivos em promover inibição do crescimento de *S. aureus* no teste de difusão em ágar (Tabela 3). O percentual de inibição foi semelhante entre as amostras, com exceção do extrato EEGP-U1, que apresentou inibição de 70,9 % comparado a média de 40 % dos demais extratos.

Tabela 3. Médias dos diâmetros dos halos de inibição de extratos alcoólicos de própolis contra *S. aureus* e a percentagem relativa ao antibiótico ampicilina

Amostras	Média dos halos (mm)	inibição (%)
EEP-1	17,0 ± 0,00	43,8
EEP-2	16,3 ± 0,06	43,8
EEP-3	16,7 ± 0,06	43,8
EEP-4	16,7 ± 0,06	41,2
EEP-5	15,7 ± 0,06	41,2
EEP-6	13,7 ± 0,06	36,1
EEP-7	16,0 ± 0,00	41,2
EEP-8	15,0 ± 0,00	38,7
EEP-9	15,3 ± 0,06	41,2
EEP-10	14,3 ± 0,06	38,7
EEGP-U1	27,5 ± 3,91	70,9
EEGP-U2	14,5 ± 1,32	37,4
EEGP-U3	14,7 ± 0,58	37,9
EEGP-M1	14,8 ± 0,29	38,1
EEGP-M2	14,8 ± 0,76	38,1
EEGP-M3	15,5 ± 0,50	39,9
Ampicilina	38,8 ± 1,44	100
Solvente	Sem halo	-

Para os extratos de própolis de Melipona, os resultados de halo de inibição encontrados no presente estudo foram superiores aos

encontrados por Silva e colaboradores, de 8,00 ± 1 mm e por De Souza e colaboradores,

de $7,33 \pm 1,52$. Ambos avaliados na concentração $12,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.^{33,34}

Com relação a própolis de *Apis mellifera*, Portilho e colaboradores obtiveram halos de 10 cm em média, enquanto De Araujo e colaboradores obtiveram halos de inibição próximos ao encontrado no presente estudo entretanto, em concentrações de $50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e volume de amostragem de $10\mu\text{L}$.^{35,36}

Diferenças no processo de extração podem estar relacionados com os diferentes halos de inibição apresentados ainda que utilizando a mesma metodologia de avaliação.

A atividade antimicrobiana de extratos de própolis é frequentemente relacionada ao seu conteúdo fenólico.^{23,37} Substâncias fenólicas são capazes de interferir na estrutura e no funcionamento das membranas de bactérias, tornando-as mais suscetíveis à permeabilidade de prótons, resultando a morte celular por perda do material citoplasmático.³⁷

Curiosamente, o extrato que apresentou maior atividade antimicrobiana, EEGP- U1, não foi o extrato que apresentou maior teor de fenólicos ou flavonoides, embora tenha apresentado a maior atividade antioxidante quando avaliada por meio do radical ABTS, porém baixo CE_{50} quando avaliado por DPPH. A amostra EEP-10, por exemplo, apresenta teor de fenólicos totais $9,88 \pm 0,003 \text{ mg E}_{\text{AG}}\cdot 100\text{mg}^{-1}$ e de flavonoides, $4,59 \pm 0,000 \text{ mg E}_{\text{QE}}\cdot 100\text{mg}^{-1}$, valores cerca de 30 % superiores aos apresentados por EEGP-U1 ($6,32 \pm 0,00 \text{ mg E}_{\text{AG}}\cdot 100\text{mg}^{-1}$ e $3,26 \pm 0,00 \text{ mg E}_{\text{QE}}\cdot 100 \text{ mg}^{-1}$), entretanto este último apresentou maior atividade antimicrobiana. É preciso ressaltar que a atividade antimicrobiana da própolis também está associada à presença de outros componentes que não são substâncias fenólicas, tais como terpenoides, e que a falta de correlação entre o teor de substâncias fenólicas e os halos de inibição pode estar associada com a presença dessas substâncias.³⁹

Alguns estudos têm mostrado que substâncias antioxidantes podem contribuir para o aumento da oxidação (funcionando como pró-oxidantes) na presença de alguns íons metálicos e radicais fenólicos, produzindo espécies como O_2 e H_2O_2 ,³⁸ que podem ser responsáveis pelo efeito antimicrobiano de extratos com elevada capacidade antioxidante.

3.5. Análise estatística: Correlação entre os parâmetros avaliados

A própolis é valiosa comercialmente, e também cientificamente, por conta do seu elevado teor de substâncias fenólicas, que se reflete na boa capacidade antirradicalar de seus extratos. De modo a avaliar as possíveis correlações entre o teor de substâncias fenólicas com a capacidade antioxidante das amostras, foi elaborada a matriz de correlação de Pearson, descrita na Tabela 4. Os ensaios utilizados como variáveis estatísticas foram o teor de fenóis totais (TP), o teor de flavonoides totais (TF) e a capacidade antioxidante determinada pelos ensaios de captura de radicais (ABTS e DPPH).

De acordo com o observado na matriz de correlação de Pearson, houve forte correlação entre o teor de fenólicos totais (TP) e o teor de flavonoides totais (TF) com a capacidade antioxidante pelo método ABTS, apresentando $r = 0,75$ e $r = 0,95$, ($p < 0,05$), respectivamente. Os teores de fenólicos e flavonoides totais também apresentaram correlação significativa com a capacidade antirradicalar pelo DPPH (CE_{50}), apresentando $r = -0,61$ e $r = -0,81$ ($p < 0,05$). Tal resultado demonstra que as substâncias fenólicas presentes nas amostras, principalmente o teor de flavonoides, influenciaram significativamente na capacidade antioxidante em ambos os métodos de análise (ABTS e DPPH), o que pode estar relacionado aos tipos de flavonoides presentes.

Tabela 4. Matriz de correlação entre as variáveis analisadas para as amostras de geoprópolis e de própolis marrom

	TP	TF	ABTS	CE ₅₀
TP	1,000	---	---	---
TF	0,728	1,000	---	---
ABTS	0,753	0,954	1,000	---
CE ₅₀	-0,608	-0,811	-0,814	1,000

As correlações observadas neste trabalho foram semelhantes às apresentadas por Silva e colaboradores³³ onde foram avaliados extratos hidroalcoólicos de amostras de própolis do meliponíneo *Plebeia aff. flavocincta*, sendo observada maior correlação da atividade antioxidante pelo método fotocolorimétrico *in vitro* do radical livre DPPH com o teor de flavonoides totais ($r = 0,912$, $p < 0,0001$) em comparação com os fenólicos totais ($r = 0,870$, $p < 0,0001$). Salgueiro e Castro avaliaram doze amostras de própolis verde produzidas por abelha *A. mellifera*,¹¹ tendo sido observada também alta correlação da capacidade antioxidante pelos métodos FRAP, ABTS e DPPH (CE₅₀) com o teor de flavonoides totais ($r = 0,87$, $r = 0,71$ e $r = -0,74$, $p < 0,05$, respectivamente) em comparação com fenólicos totais, onde não foram observadas correlações significativas.

3.6. Análise quimiométrica aplicada aos resultados das análises da geoprópolis e própolis marrom

Para fins de comparação e tentativa de discriminação entre a geoprópolis e própolis foi verificada a influência da espécie da abelha na variabilidade química dos resultados obtidos para os teores de fenólicos, flavonoides totais e capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP), utilizando-se como ferramentas estatísticas a Análise das Componentes Principais (ACP).

O método de ACP foi aplicado considerando-se as amostras: EEGP-U1 a

EEGP-U3 (*Melipona rufiventris*), EEGP-M1 a EEGP-M3 (*Melipona quadrifasciata*) e EEP-1 a EEP-10 (*Apis mellifera*). Na Figura 2, observa-se o gráfico de *scores* para a primeira e a segunda componente principal (CP1 e CP2, respectivamente), que juntas representam 84,84 % da variância dos dados e para as quais o agrupamento das amostras foi reconhecido. Observa-se uma clara separação entre as amostras de própolis e geoprópolis, bem como entre as amostras de geoprópolis de espécies de abelhas distintas, indicando diferenças na composição química qualitativa dos extratos.

Através da análise do gráfico *scores/loadings* (Figura 2) observou-se a formação de três grupos distintos: amostras de geoprópolis de *Melipona quadrifasciata* (EEGP-M1 a EEGP-M3), amostras de geoprópolis de *Melipona rufiventris* (EEGP-U1 a EEGP-U3) e outro com a própolis de *Apis mellifera* (EEP-1 a EEP-10).

O gráfico (Figura 2) permitiu também a caracterização de tendências entre as variáveis, ou seja, indicou quais variáveis foram as principais responsáveis pela construção do gráfico. Neste caso o teor de flavonoides (TF) e a capacidade antioxidante em FRAP foram as variáveis que mais exerceram um poder discriminante para a separação das amostras de própolis de abelhas *Apis mellifera* (EEP). Enquanto para as amostras de geoprópolis de *Melipona rufiventris* (EEGP-U) foram os teores de fenólicos (TP) e a capacidade antioxidante em ABTS, e para as amostras de geoprópolis de *Melipona quadrifasciata* (EEGP-M) foi apenas capacidade antioxidante em DPPH.

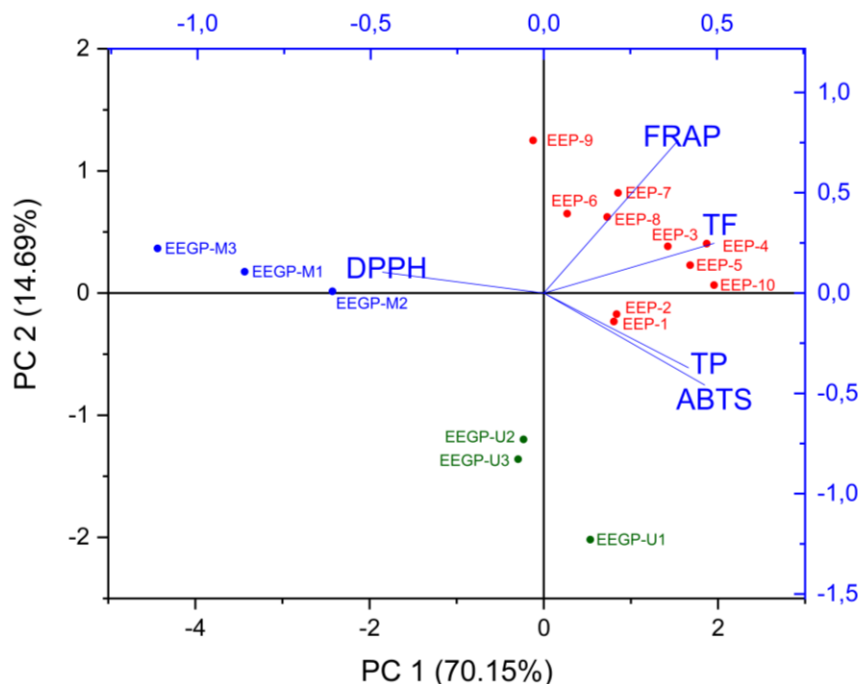


Figura 2. Gráfico *scores/loadings* aplicados ao teor de fenólicos totais (TP), flavonoides totais (TF), FRAP, DPPH, ABTS das amostras: EEGP-U1 a EEGP-U3 (*Melipona rufiventris*), EEGP-M1 a EEGP-M3 (*Melipona quadrifasciata*), EEP-1a EEP-10 (*Apis mellifera*)

4. Conclusão

Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram que os extratos de própolis marrom apresentaram maior teor de substâncias polifenólicas comparados a geoprópolis, e conseqüentemente, capacidade antirradicalar superior. A geoprópolis produzida pelas abelhas mandacaiá apresentaram baixo teor em substâncias polifenólicas (fenóis totais e flavonoides), o que implicou na sua menor capacidade antioxidante. Já as amostras de geoprópolis urucu-amarela apresentaram capacidade antioxidante superior, que pode estar relacionada ao seu maior conteúdo em fenólicos totais. Entre essas amostras, os extratos etanólicos de urucu-amarela apresentaram melhor capacidade antioxidante pelo método de captura de radicais DPPH e ABTS.

Os dados espectrais obtidos para todos os extratos de geoprópolis e própolis marrom apresentaram máximos de absorções na região do UV-VIS, o que corrobora com a

presença de substâncias fenólicas. Os espectros de absorção apresentaram diferenças de acordo com a espécie da abelha, indicando diferenças na composição química das amostras, e essas características podem estar associadas com a origem geográfica e com os hábitos de coleta de espécies vegetais de cada abelha.

O método não-supervisionado de classificação (ACP) se mostrou uma ferramenta eficiente para discriminar os extratos de geoprópolis e própolis, e pode ser utilizado para uma rápida distinção entre as amostras de diferentes espécies de abelhas, assim como de diferentes regiões.

Os ensaios realizados com *S. aureus* revelaram que todos os extratos etanólicos de própolis marrom e geoprópolis apresentam significativa atividade antimicrobiana. Estes resultados sugerem o uso de extratos de própolis marrom e geoprópolis como uma alternativa interessante no controle de microrganismos.

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que a espécie de abelha e a origem

geográfica, influenciam a composição química, a capacidade antirradicalar e atividade antimicrobiana dos produtos apícolas. A caracterização e a padronização química da própolis e geoprópolis, levando em conta as espécies de abelhas e as condições ambientais em que são produzidos, são fundamentais para reconhecer e melhorar a qualidade desses produtos e dar garantia no uso pelos consumidores.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao CNPq e FAPERJ pelo suporte financeiro para o desenvolvimento dos estudos.

Referências Bibliográficas

- ¹ Bankova, V.; Castro, S. L. D.; Marcucci, M. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* **2000**, 31, 3. [CrossRef]
- ² Park, Y. K, Alencar, S.M, Aguiar, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50, 2502. [CrossRef] [PubMed]
- ³ Domingos, A. T. S.; Nóbrega, M. M.; Silva, R. A. Biologia das abelhas *Apis mellifera*: Uma revisão bibliográfica. *Acta Apícola Brasileira* **2016**, 4, 8. [CrossRef]
- ⁴ Sítio do Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE). Boletim: O Mercado da própolis. Disponível em: <<http://www.sebrae2014.com.br>>. Acesso em: 29 janeiro 2019.
- ⁵ Bueno-Silva, B.; Franchin, M.; Alves, C. F.; Denny, C.; Colon, D. F.; Cunha, T. M.; Alencar, S. M.; Napimoga, M. H.; Rosalen, P. L. Main pathways of action of Brazilian red propolis on the modulation of neutrophils migration in the inflammatory process. *Phytomedicine* **2016**, 23, 1583. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶ Cunha, M. H.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil, 2018. [Link]
- ⁷ Freires, I. A.; Queiroz, V. C. P. P.; Furletti, V. F.; Ikegaki, M.; de Alencar, S. M.; Duarte, M. C. T.; Rosalen, P. L. Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida* spp. *Journal de Mycologie Médicale* **2016**, 26, 122. [CrossRef] [PubMed]
- ⁸ Gomes, M. F. F.; Ítavo, C. C. B. F.; Leal, C. R. B.; Ítavo, L. C. V.; Lunas, R. C. Atividade antibacteriana *in vitro* da própolis preta. *Pesquisa Veterinária Brasileira* **2016**, 36, 279. [CrossRef]
- ⁹ Franchin, M.; Freires, I. A.; Lazarini, J. G.; Nani, B. D.; Cunha, M. G.; Colón, D. F.; Rosalen, P. L. The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, 153, 49. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰ Pereira, D. S.; Freitas, C. I. A.; Freitas, M. O.; Maracajá, P. B.; Silva, J. B. A.; Silva, R. A.; Silveira, D. C. Histórico e principais usos da própolis apícola. *Agropecuária Científica no Semi-Árido* **2015**, 11, 1. [Link]
- ¹¹ Salgueiro, F. B.; Castro, R. N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. *Química Nova* **2016**, 39, 1192. [CrossRef]
- ¹² Peter, C. M.; Picoli, T.; Zani, J. L.; Latosinski, G. S.; Lima, M.; Vargas, G. D.; Hübner, S. O.; Fischer, G. Antiviral and virucidal activity of hydroalcoholic extract of propolis brown, green and jataí bees (*Tetragonisca angustula*) against Bovine Herpesvirus Type-1 (BoHV-1) and Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV). *Pesquisa Veterinária Brasileira* **2017**, 37, 667. [CrossRef]
- ¹³ Cordeiro, A. R.; Simoni, R. E.; Wisniewski Jr., A.; Nunes, D. S. Composição química de duas variedades de própolis dos campos gerais do Paraná. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável* **2015**, 5, 21. [Link]

- ¹⁴ Toretj, V. C.; Sato, H. H; Pastore, G. M.; Park, Y. K. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2013**, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵ Santos, C. M.; Campos, J. F.; Santos, H. F.; Balestieri, J. B. P.; Silva, B. D.; Souza, K. P.; Carollo, C. A.; Estevinho, L. M.; Santos, E. L. Chemical composition and pharmacological effects of geoprópolis produced by *Melipona quadrifasciata anthioides*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2017**, 2017, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶ Sanches, M. A.; Pereira, A. M. S.; Serrão, J. E. Pharmacological actions of extracts of própolis of stingless bees (Meliponini). *Journal of Apicultural Research* **2017**, 56, 50. [[CrossRef](#)]
- ¹⁷ Park, Y. K.; Ikegaki, M.; Alencar, S. M.; Moura, F.F. Evaluation of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. *Honeybee Science* **2000**, 21, 85. [[Link](#)]
- ¹⁸ Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C.; Turk, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology* **1966**, 45, 493. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁹ Sawaya, A.C.H.F.; Cunha, I.B.S.; Marcucci, M.C. Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. *Chemistry Central Journal* **2011**, 5, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁰ Papotti, G., Bertelli, D., Rossi, M.C., Plessi, M. Use of HR-NMR to classify propolis obtained using different harvesting methods. *International Journal of Food Science and Technology* **2010**, 45, 1610. [[CrossRef](#)]
- ²¹ Santos, L; Hochheim, S.; Boeder, A. M.; Kroger, A.; Tomazzoli, M. M.; Neto, R. D. P.; Maraschin, M.; Guedes, A.; Cordova, C. M. M. Chemical characterization, antioxidant, cytotoxic and antibacterial activity of própolis extracts and isolated compounds from the Brazilian stingless bees *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula*. *Journal of Apicultural Research* **2017**, 56, 543. [[CrossRef](#)]
- ²² BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geleia real, geleia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2001, Seção 1, 18.
- ²³ Torres, A. R.; Sandio, L. P.; Friedemann, M. T.; Tomazzoli, M. M.; Maraschin, M.; Mello, C. F.; Santos, A. R. S. Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **2018**, 51, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁴ Cardozo, D. V.; Mokochinski, J. B.; Schneider, C. M.; Sawaya, A. C. H. F.; Caetano, I. K.; Felsner, M. L.; Torres, Y. R. Variabilidade Química de Geoprópolis Produzida pelas Abelhas sem Ferrão Jataí, Mandaçaia e Mandurí. *Revista Virtual de Química* **2015**, 7, 2457. [[CrossRef](#)]
- ²⁵ dos Santos, L.; Hochheim, S.; Boeder, A.M.; Kroger, A.; Tomazzoli, M.M.; Neto, R.D.P.; Maraschin, M.; Guedes, A.; Cordova, C.M.M. Chemical characterization, antioxidant, cytotoxic and antibacterial activity of propolis extracts and isolated compounds from Brazilian stingless bee *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula*. *Journal of Apicultural Research* **2017**, 56, 543. [[CrossRef](#)]
- ²⁶ Ferreira, J. M.; Fernandes-Silva, C. C.; Salatino, A.; Message, D.; Negri, G. Antioxidant activity of a geoprópolis from northeast Brazil: Chemical characterization and likely botanical origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2017**, 4024721, 1. [[CrossRef](#)]
- ²⁷ Araújo, K. S. S.; Júnior, J. F. S.; Sato, M. O.; Finco, F. D. B. A.; Soares, I. M.; Barbosa, R. S.; Alvim, T. C.; Ascêncio, S. D.; Mariano, S. M. B. Physicochemical properties and antioxidant

- capacity of propolis of stingless bees (Meliponinae) and *Apis* from two regions of Tocantins, Brazil. *Acta Amazonica* **2016**, *46*, 61. [[CrossRef](#)]
- ²⁸ Machado, B. A. S.; Silva, R. P. D.; Barreto, G. A.; Costa, S. S.; Silva, D. F.; Brandão, H. N.; Rocha, J. L. C.; Dellagostin, O. A.; Henriques, J. A. P.; Umsza-Gues, M. A.; Padilha, F. F. Chemical Composition and Biological Activity of Extracts Obtained by Supercritical Extraction and Ethanolic Extraction of Brown, Green and Red Propolis Derived from Different Geographic Regions in Brazil. *Plos One* **2016**, *11*, 1. [[CrossRef](#)]
- ²⁹ Coelho, J.; Falcão, S. I.; Vale, N.; Almeida-Muradian, L. B.; Vilas-Boas, M. Phenolic composition and antioxidant activity assessment of southeastern and south Brazilian propolis. *Journal of Apicultural Research* **2017**, *56*, 21. [[CrossRef](#)]
- ³⁰ Cottica, S. M.; Sawaya, A. C. H. F.; Eberlin, M. N.; Franco, S. L.; Zeoula, L. M.; Visentainer, J. V. Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2011**, *22*, 929. [[CrossRef](#)]
- ³¹ Bittencourt, M. L. F.; Ribeiro, P. R. R.; Franco, R. L. P.; Hilhorst, H. W. M.; Castro, R. D.; Fernandez, L. G. Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: Use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. *Food Research International* **2015**, *76*, 449. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³² HaddadKashani, H.; Schmelcher, M.; Sabzalipoor, H.; Seved Hosseini, E.; Moniri, R. Recombinant endolysins as potential therapeutics against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*: Current status of research and novel delivery strategies. *Clinical microbiology reviews* **2018**, *31*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³³ Silva, J. B.; Costa, K. M. F. M.; Coelho, W. A. C.; Paiva, K. A. R.; Costa, G. A. V.; Salatino, A.; Freitas, C. I. A.; Batista, J. S. Quantificação de fenóis, flavonoides totais e atividades farmacológicas de geoprópolis de *Plebeia aff. Flavocincta* do Rio Grande do Norte. *Pesquisa Veterinária Brasileira* **2016**, *36*, 874. [[CrossRef](#)]
- ³⁴ de Sousa, D. M. N. Prospecção fitoquímica, toxicidade *in vitro* e avaliação das atividades anti-radicalar e antibacteriana da geoprópolis da abelha jandaíra. *Acta Veterinaria Brasílica* **2015**, *9*, 134. [[CrossRef](#)]
- ³⁵ Portilho, D. R.; Melo, I. A.; Guerra, R. C.; Batista, H. L.; Fernandes, C. H. C. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica da própolis produzida no estado do Tocantins. *Revista Científica do ITPAC* **2013**, *6*, 1. [[Link](#)]
- ³⁶ Maia-Araujo, Y. L. F.; Mendonça, L. S.; Orellana, S. C.; Araujo, E. D. Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. *Scientia plena* **2011**, *7*, 1. [[Link](#)]
- ³⁷ Sousa, J. M.; Souza, E. L.; Marques, G.; Meireles, B.; Cordeiro, A. T. M.; Gullón, B.; Pintado, M. M.; Magnani, M. Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by Meliponini in the Brazilian semiarid region. *Food Research International* **2016**, *84*, 61. [[CrossRef](#)]
- ³⁸ Eghbaliferiz, S.; Iranshahi, M. Prooxidant activity of polyphenols, flavonoids, anthocyanins and carotenoids: updated review of mechanisms and catalyzing metals. *Phytotherapy Research* **2016**, *30*, 1379. [[CrossRef](#)]
- ³⁹ Huang, S.; Zhang, C-P.; Wang, K.; Li, G. Q.; Hu, F-L. Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules* **2014**, *19*, 19610. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]