

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIFÚNGICA DAS PRÓPOLIS DE MATO GROSSO

ALEXANDRA OLIVEIRA RAMOS

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais para obtenção do título de Mestre.

**CÁCERES
MATO GROSSO, BRASIL
2023**

ALEXANDRA OLIVEIRA RAMOS

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIFÚNGICA DAS PRÓPOLIS DE MATO GROSSO**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a Dr^a Carla Galbiati

**CÁCERES
MATO GROSSO, BRASIL
2023**

ALEXANDRA OLIVEIRA RAMOS

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIFÚNGICA DAS PRÓPOLIS DE MATO GROSSO**

Essa dissertação foi julgada e aprovada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Cáceres, 12 de dezembro de 2023.

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 **ERNANDES SOBREIRA OLIVEIRA JUNIOR**
Data: 24/07/2024 13:27:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ernandes Sobreira Junior
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT

Documento assinado digitalmente
 **MARIA CRISTINA MARCUCCI RIBEIRO**
Data: 30/07/2024 11:09:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª. Maria Cristina Marcucci
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/ Instituto
de Ciência e Tecnologia Câmpus São José dos Campos - UNESP/ ICT-
SJC

Documento assinado digitalmente
 **CARLA GALBIATI**
Data: 18/07/2024 20:33:00-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª Carla Galbiati
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT (Orientadora)

**CÁCERES
MATO GROSSO, BRASIL
2023**

Ficha catalográfica elaborada pela Supervisão de Bibliotecas da UNEMAT Catalogação de Publicação na Fonte.
UNEMAT - Unidade padrão

Ramos, Alexandra Oliveira.

Composição química, atividade antioxidante e antifúngica das própolis de Mato Grosso / Alexandra Oliveira Ramos. - Cáceres, 2024.
103f.: il.

Universidade do Estado de Mato Grosso "Carlos Alberto Reyes Maldonado",
Ciências Ambientais/CAC-PPGCA - Cáceres - Mestrado Academico, Campus
Universitário De Cáceres "Jane Vanini".

Orientadora: Dra. Carla Galbiati.

1. Teores de Fenólicos. 2. Flavonoides. 3. Antimicrobiana. 4. Antioxidante.
5. Origem Botânica. I. Galbiati, Carla, Dra. II. Título.

UNEMAT / MT-SCB

CDU 638.135(817.2)

DEDICATÓRIA

A Deus

A minha família

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais da Universidade do Estado de Mato Grosso.

A CAPES pelo apoio financeiro, através da concessão da bolsa de mestrado.

A professora Dr^a Carla Galbiati, pela paciência na orientação e parceria.

A todos os professores do Programa de Ciências Ambientais pelos conhecimentos compartilhados para a nossa formação.

As amizades que adquiri durante as atividades no laboratório do Centro de Estudos em Apicultura (CET^{Apis}) e parceria da Mariana e Rithiely.

A minha família que me incentivou sempre nos meus estudos, principalmente minha mãe Kátia e meu pai Alexandre, pelo apoio.

Ao meu namorado Matheus por sempre me incentivar e se fazer presente nos meus dias bons e ruins.

Aos amigos do cotidiano que estiveram presentes nessa trajetória.

A todos que de uma forma direta ou indireta colaboraram para a realização deste trabalho.

Finalmente, a Deus, não com menor importância, por ter me iluminado nesta caminhada a cada novo dia.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	13
RESUMO GERAL	16
ABSTRACT	18
INTRODUÇÃO GERAL	16
REFERÊNCIAS	19
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA PRÓPOLIS COM INFLUÊNCIA DA AMAZÔNIA E DO CERRADO DE MATO GROSSO	21
RESUMO	21
ABSTRACT	21
INTRODUÇÃO	23
MATERIAL E MÉTODOS	24
Área de estudo	24
Amostra de Própolis	26
Preparo do Extrato Seco e Etanólico de Própolis	27
Atividade Antifúngica	27
Microrganismos	27
Concentração Inibitória Mínima (CIM)	27
Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)	28
Origem Botânica da Própolis	28
Análise dos Dados	29
RESULTADOS	29
DISCUSSÃO	31
CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
EXTRATO DE PRÓPOLIS VERDE E VERMELHO DE MATO GROSSO E COMPOSTOS BIOATIVOS	40
RESUMO	40
ABSTRACT	40
INTRODUÇÃO	41
MATERIAL E MÉTODOS	43
Área do estudo	43
Amostras de própolis	45
Preparo dos extratos etanólicos de própolis	46
Caracterização da cor dos extratos etanolicos de própolis	46

Quantificação do teor de fenólicos e flavonoides.....	46
RESULTADOS.....	47
DISCUSSÃO	51
CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS.....	54
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DA PRÓPOLIS DE MATO GROSSO.....	59
RESUMO.....	59
ABSTRACT.....	59
INTRODUÇÃO	60
MATERIAL E MÉTODOS	62
Local do estudo.....	62
Amostras de própolis	64
Preparação do extrato de própolis	64
Caracterização físico-químicas	64
Determinação de fenólicos totais	66
Determinação de flavonoides	67
Caracterização biológica	67
Atividade antioxidante	67
Sequestro do radical livre 2,2-diphenil-1-pyrcilhidrazila (DPPH)	67
Captura do radical livre óxido nítrico (NO).....	68
Atividade antimicrobiana	69
Microrganismos	69
Determinação da concentração microbiana mínima	70
Origem botânica.....	70
Análise de dados.....	70
RESULTADOS.....	71
Características físico-químicas.....	71
Atividade biológica	76
Atividade antioxidante.....	76
Atividade antimicrobiana	77
Origem botânica.....	79

DISCUSSÃO	80
CONCLUSÃO	83
CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
APÊNDICES	91

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1: Atividade antifúngica da própolis de Mato Grosso

Tabela 1. Inibição do crescimento dos fungos (%) em função da própolis da origem geográfica de Mato Grosso, 2022. Valores expressos pela média e desvio padrão.....	31
---	----

Capítulo 2: Cor do extrato de própolis de Mato Grosso e compostos bioativos

Tabela 1. Cor do extrato etanólico de própolis, segundo a Carta de Cor de Munsell, nas concentrações de 11% e 0,4%.....	49
Tabela 2. Análise da quantificação do teor de fenólicos totais e flavonoides.....	51

Capítulo 3: Caracterização físico-química e biológica da própolis de Mato Grosso

Tabela 1a. Características físico-químicas do extrato etanólico de própolis expressas em média e desvio padrão. Cera % (m/m); massa mecânica % (m/m)	73
Tabela 1b. Características físico-químicas do extrato etanólico de própolis expressa em média e desvio padrão. Umidade % (m/m), Cinza % (m/m), Índice de oxidação (tempo segundos)	74
Tabela 2. Cor do extrato etanólico de própolis, segundo a Carta de cor de Munsell.....	76
Tabela 3. Quantificação de fenólicos totais (mg GA/g) e flavonoides totais (mg QE/g) do extrato etanólico de própolis dos municípios de Mato Grosso Brasil.....	77
Tabela 4. Atividade antioxidante, nos métodos de DHPP, Óxido Nítrico e FRAP (IC ₅₀ % própolis = µg/ml ± SD e IC ₅₀ % ácido ascórbico = µg/mL ± SD) do extrato etanólico de própolis dos municípios de Mato Grosso Brasil.....	78

Tabela 5. Concentração inibitória mínima (CIM) expressos em mg/mL, do extrato etanólico de própolis em relação as bactérias gram-positivas e gram-negativas e aos fungos.....	79
---	----

APÊNDICES

Tabela Complementar 1. Perfil polínico da própolis de Mato Grosso devido a origem geográfica dos municípios de Cáceres, Comodoro, Conquista D'Oeste e Reserva do Cabaçal. Origem botânica dos pólenes organizados por família e gênero taxonômicos. Pólen acessório (PA) frequência de ocorrência 15 a 45% e pólen isolado (PI) frequência de ocorrência < 15%. *Numeração usada no 1º capítulo da dissertação.	96
--	----

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1: Atividade antifúngica da própolis de Mato Grosso

Figura 1. Mapa da localização dos apiários e os biomas correspondentes, dos municípios de Cáceres, Comodoro, Conquista D'oeste e Reserva do Cabaçal.....25

Capítulo 2: Cor do extrato de própolis de Mato Grosso e compostos bioativos

Figura 1. Mapa da localização dos apiários e os biomas correspondentes, dos municípios de Cáceres, Comodoro, Conquista D'oeste e Reserva do Cabaçal.....44

Capítulo 3: Caracterização físico-química e biológica da própolis de Mato Grosso.

Figura 1. Localização dos apiários, dos municípios de Conquista d'Oeste, Comodoro, Reserva do Cabaçal e Cáceres, no estado de Mato Grosso e os biomas (Cerrado: rosa, Amazônia: verde; Pantanal: azul que estão inseridos. Fonte: Dados do IBGE, 2021, processados no Software QGis.....63

APÊNDICE

Apêndice C. Cor dos extratos de própolis de Mato Grosso, nas concentrações de 11%, 5% e 0,4% dos municípios de Comodoro (P1 a P4), Reserva do Cabaçal (P5 e P6), Conquista D'Oeste (P7 e P8) e Cáceres (P9 e P10).....100

Apêndice D1. Extratos de própolis de Mato Grosso comparadas na carta de Munsell, nas concentrações de 11%, 5% e 0,4% dos municípios de Comodoro (P1 a P4), Reserva do Cabaçal (P5 e P6), Conquista D'Oeste (P7).....101

Apêndice D2. Extratos de própolis de Mato Grosso comparadas na carta de Munsell, nas concentrações de 11%, 5% e 0,4% dos municípios de Comodoro

(P1 a P4), Reserva do Cabaçal (P5 e P6), Conquista D'Oeste (P7).....	102
--	-----

ABREVIATURAS

CIM - Concentração Inibitória Mínima

CFM – Concentração Fungicida Mínima

CLSI - Clinical e Laboratory Standards Institute

DPPH - Sequestro do radical livre 2,2-diphenil-1-picrilhidrazila

DMSO - Dimetilsulfóxido de dimetilo

FRAP - Poder redutor do íon férrico

NO - Captura do radical livre óxido nítrico

UBS – Unidade Básica de Saúde

PNPIC - Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS

SUS – Sistema único de Saúde

RESUMO GERAL

RAMOS, Alexandra Oliveira. Composição química, atividade antioxidante e antifúngica das própolis de Mato Grosso. Cáceres: UNEMAT, 2023. 102 p. (Dissertação – Mestrado em Ciências Ambientais)¹.

A própolis é produzida pelas abelhas e sua composição química contém substâncias como ácidos e flavonoides advindos de plantas, as quais explicam as atividades biológicas como antimicrobiana e antioxidante. A atividade biológica da própolis é influenciada pela origem botânica das espécies de plantas visitadas pelas abelhas, por isso a origem geográfica influencia a qualidade da própolis em função da diversidade vegetal. A própolis de *Apis mellifera* de Mato Grosso sofre influência das espécies de plantas do Cerrado, Pantanal, Amazônia e das espécies agrícolas, assim como da atividade biológica. Diante disso, o objetivo geral desta dissertação foi analisar a própolis de Mato Grosso quanto à caracterização físico-química, atividades antimicrobiana e antioxidante. Esta dissertação possui três capítulos para responder ao objetivo geral. As amostras de própolis foram coletadas nos municípios de Comodoro, Colíder, Nova Santa Helena, Nova Lacerda, Conquista D'Oeste, Reserva do Cabaçal e Cáceres devido ao potencial de atividade biológica e composição química da própolis destes municípios. Na caracterização físico-química foram analisados os teores de cera, massa mecânica, umidade, cinzas (expressas em % m/m) e índice de oxidação (segundos). A cor do extrato etanólico da própolis foi determinada com o auxílio da carta de cor de Munsell. A quantificação de fenóis e flavonoides totais foi feita pelo método espectrofotométrico. A atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos de própolis foi avaliada através do método de microdiluição em caldo, nas concentrações de 8000 a 1,95 ug/ mL, expressa pela concentração inibitória mínima (CIM). A atividade antioxidante foi analisada pelos métodos DHPP, FRAP e ON. A análise dos dados foi descritiva, expressa por média e desvio-padrão. O resultado da caracterização físico-química de 10 amostras de própolis encontra-se dentro dos critérios de qualidade para consumo humano, estabelecidos pela legislação brasileira. Os extratos de própolis de Mato Grosso possuem cores vermelha, verde-oliva, marrom e preta, com teores de fenólicos totais e flavonoides semelhantes às de outras própolis brasileiras, com destaque para a própolis verde-oliva de Reserva do Cabaçal. A atividade antifúngica foi identificada na própolis 1 de Comodoro, com CIM de 1000 ug/ mL sobre *Candida albicans*, que teve como diferencial o pólen de *Borreria densiflora*, distinta das demais amostras. As outras sete amostras de própolis não apresentaram atividade antifúngica, nove própolis de Mato Grosso apresentaram atividade antimicrobiana e antioxidante que assemelham outras própolis do Brasil. Duas amostras de própolis não apresentam atividade antimicrobiana (P3) e atividade antioxidante (P7). Esse resultado amplia a origem geográfica das própolis brasileiras com a inserção da própolis de Mato Grosso. As própolis vermelha, verde, marrom-escura e preta de Mato Grosso têm atividade antimicrobiana e antioxidante em função da localização geográfica do apiário, por isso a caracterização de própolis de Mato Grosso com potencial

¹ Orientador: Carla Galbiati, UNEMAT.

antimicrobiano e antioxidante aumenta o número de própolis promissoras em propriedades farmacológicas no Brasil.

Palavras chave: Teores de fenólicos; Flavonoides; Antimicrobiana; Antioxidante, Origem botânica.

ABSTRACT

RAMOS, Alexandra Oliveira. Chemical composition, antioxidant and antifungal activity of propolis from Mato Grosso. Cáceres: UNEMAT, 2023. 101 p. (Dissertation – Master's in Ciências Ambientais)²

Propolis is produced by bees and its chemical composition contains substances such as acids and flavonoids from plants, those which explain its biological activities such as antimicrobial and antioxidant. The biological activity of propolis is influenced by the botanical origin of the plant species visited by bees, therefore, the geographical origin influences the quality of propolis determined by plant diversity. The *Apis mellifera* propolis from Mato Grosso is influenced by plant species from the Cerrado, Pantanal, Amazon, and agricultural species, as well as biological activity. That being the case, the general objective of this dissertation was to analyze propolis from Mato Grosso regarding its physicochemical characterization, and antimicrobial and antioxidant activities. This dissertation has three chapters to answer the general objective. The samples of propolis were collected in Comodoro, Colíder, Nova Santa Helena, Nova Lacerda, Conquista D'Oeste, Reserva do Cabaçal e Cáceres, specific municipalities selected due to its potential for biological activity and chemical composition. In the physical-chemical characterization, were analyzed the wax content, mechanical mass, humidity, ash (expressed in % m/m), and oxidation index (seconds). The color of the propolis ethanolic extract was determined using the Munsell color chart. The quantification of total phenols and flavonoids was carried out using the spectrophotometric method. The antimicrobial activity of ethanolic propolis extracts was evaluated using the broth microdilution method, at concentrations of 8000 to 1.95 ug/mL, expressed by the minimum inhibitory concentration (MIC). Antioxidant activity was analyzed using the DHPP, FRAP, and ON methods. The data analysis was descriptive, conveyed by average and standard deviation. The result of the physical-chemical characterization of 10 propolis samples is within the quality criteria for human consumption, established by Brazilian legislation. The coloration of propolis extracts from Mato Grosso are red, olive-green, brown, and black, with total phenolic and flavonoid contents similar to those of other Brazilian propolis, with emphasis on olive-green propolis from Reserva do Cabaçal. Antifungal activity was identified in propolis 1 from Comodoro, with a MIC of 1000 ug/mL on *Candida albicans*, which has as its differential the pollen of *Borreria densiflora*, distinct from the other samples. The other seven propolis samples did not show antifungal activity, nine propolis from Mato Grosso showed antimicrobial and antioxidant activity that resembles other propolis in Brazil. Two propolis samples did not show antimicrobial activity (P3) or antioxidant activity (P7). This result expands the geographic origin of Brazilian propolis with the inclusion of propolis from Mato Grosso. The propolis in the colors red, green, brow, and black from Mato Grosso have antimicrobial and antioxidant activity due to the geographic location of the apiary. Consequently, the characterization of Mato Grosso's propolis with antimicrobial and antioxidant potential increases the number of propolis with promising pharmacological properties in Brazil.

² Major Professor Carla Galbiati, UNEMAT.

Keywords: Phenolic content; Flavonoids; Antimicrobial; Antioxidant, Botanical origin.

INTRODUÇÃO GERAL

Os produtos naturais são utilizados pelos seres humanos como tratamento e prevenção de doenças, portanto é promissor o desenvolvimento de novos medicamentos a partir de produtos naturais biologicamente ativos (LAM, 2007). Nesse sentido, a própolis é um produto natural, produzido pelas abelhas, e que tem em sua composição química compostos como o ácido gálico, ácido vanilina, ácido ferúlico, ácido elágico, kaempferol, quercetina, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido gentísico, ácido cinâmico e ácido siríngico. Esses compostos foram alguns dos encontrados nas própolis resultantes de diferentes fontes botânicas de distintas regiões geográficas, o que explica a sua atividade biológica (BERRETTA *et al.*, 2017).

A atividade biológica da própolis pode auxiliar na saúde humana (BESERRA *et al.*, 2021), conforme estudos que demonstram a atividade antifúngica (DE FRANCISCO *et al.*, 2018), antioxidante (CAVALARO *et al.*, 2019), anti-inflamatória (CONTE *et al.*, 2022), antibacteriana (PEIXOTO *et al.*, 2021). As atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes foram usadas para a classificação no Brasil da própolis da *Apis mellifera*, que possui 13 grupos de acordo com a sua origem botânica e geográfica (PARK; IKEGAKI; ALENCAR, 2000; TRUSHEVA *et al.*, 2006). Entretanto, para o uso dos produtos apícolas como própolis, mel, entre outros (apiterapia), é necessária a padronização do potencial do seu uso na saúde humana (WEIS *et al.*, 2022).

A regulamentação para a comercialização da própolis no Brasil definiu os requisitos mínimos de qualidade, permitindo o controle de qualidade dos produtos apícolas (BRASIL, 2001). O uso da própolis como opoterápico foi regulamentado pela Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que promoveram a melhoria da qualidade de vida da população, contribuindo com as políticas públicas de saúde, meio ambiente, desenvolvimento econômico e social (BRASIL, 2006). O uso da própolis como opoterápico foi detalhada na Resolução de 2011 (Resolução – RDC N° 24, De 14 De Junho De 2011 (BRASIL, 2011). O uso da própolis como medicamento específico para uso tópico e na cavidade bucal, como atividade anti-inflamatório, antisséptico e cicatrizante, foi regulamentado em 2016 (RDC N° 97, de 1° de agosto de 2016) (BRASIL, 2016).

A proposta dessas políticas públicas teve como objetivo incentivar o uso da própolis na Atenção Primária de Saúde no processo saúde/doença, em Unidades Básicas de Saúde (UBS) (BRASIL, 2016), o que demonstrou o interesse de pacientes pelo uso da própolis como um produto terapêutico em Cáceres – MT (SILVA; GALBIATI, 2018).

Posteriormente ao desenvolvimento dessas políticas públicas, foi institucionalizada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC) (BRASIL, 2018), que regulamenta o uso de produtos das abelhas (apiterapia), para promoção e manutenção da saúde. Essas práticas integrativas auxiliam no tratamento de algumas doenças, podendo ser utilizada em diversos pontos da Rede de Atenção à Saúde, principalmente na Atenção Primária de Saúde (BRASIL, 2018). Outro fator que contribui para a utilização dos produtos apícolas foi o interesse pelas indústrias de cosméticos, cosmecêuticos e nutricosméticos, em produtos para o tratamento e prevenção de doenças inflamatórias relacionadas ao envelhecimento da pele (AHMED *et al.*, 2022).

Além dos seus benefícios ligados à saúde, a própolis é uma fonte de geração de emprego e renda para os apicultores de Mato Grosso, tendo em vista a existência de 522 estabelecimentos comerciais da apicultura difundidos em todo o Estado (IBGE, 2017), cuja atividade contribui com o uso sustentável da biodiversidade e fortalecimento da cadeia produtiva.

As abelhas contribuem com o uso sustentável da biodiversidade devido à utilização da biodiversidade das plantas para a produção de própolis e mel. Porém, as terras agrícolas têm causado redução na diversidade de abelhas devido a ação antrópicas e desmatamento para o cultivo de pastagens (CLAIR *et al.*, 2022). A produção sustentável com a manutenção de abelhas contribui com o Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 2: Fome Zero e Agricultura Sustentável (ONU, 2023). Uma das metas deste objetivo “visa dobrar a produtividade agrícola e a renda dos pequenos produtores de alimentos e garantir sistemas sustentáveis de produção de alimentos e implementar práticas agrícolas resilientes” (ONU, 2023). As abelhas são polinizadoras e contribui com a produção de alimento sustentável. As abelhas ainda contribuem

para a polinização em ambientes naturais, o que atende ao ODS 15: Vida terrestre, o qual “objetiva-se proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável das florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da terra e deter a perda de biodiversidade” (ONU, 2023). O ODS 3: Saúde e Bem-estar que “visa assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todas e todos, em todas as idades”, está associado ao uso da própolis com atividades biológicas em Práticas Integrativas e Complementares no SUS, contribuindo para essa meta de saúde.

Diante disso, este estudo apresenta a própolis como potencial nos aspectos de saúde e meio ambiente, que se enquadra no interesse do uso sustentável e conservação da biodiversidade do Pantanal, Amazônia e Cerrado. O objetivo geral desta dissertação é analisar a própolis de Mato Grosso quanto à caracterização físico-química, atividades antifúngica e antioxidante. Essa dissertação encontra-se dividida em três capítulos. O primeiro capítulo analisa a atividade antifúngica dos extratos etanólicos de própolis de Mato Grosso e sua relação com as fontes botânicas e tem como hipótese a atividade antifúngica da própolis de Mato Grosso, em função da característica botânica local ou das mesorregiões. O segundo capítulo avalia a cor da própolis bruta e de extrato etanólico de própolis de Mato Grosso e o teor de fenólicos totais e flavonoides. Esse capítulo teve como hipóteses: H1) As cores dos extratos etanólicos de própolis estão ligadas aos apiários inseridos no bioma Pantanal e H2). Os extratos mais escuros possuem maiores teores de fenólicos. O terceiro capítulo apresenta a caracterização físico-químicas, biológicas e em função da origem geográfica e botânica dos extratos de própolis de Mato Grosso. O último capítulo teve como hipóteses: H1) A cor dos extratos de própolis de Mato Grosso tem influência da sua origem geográfica, H2) As própolis de Mato Grosso possuem atividades antimicrobianas e antioxidantes devido ao conteúdo de fenólicos totais e flavonoides, H3). Dentre as própolis de Mato Grosso tem atividade antimicrobiana e antioxidante distintas entre si.

REFERÊNCIAS

AHMED, I. A. *et al.* Trends and challenges in phytotherapy and phytocosmetics for skin aging. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 8, p. 103363, 1 ago. 2022.

BERRETTA, A. A. *et al.* **Functional properties of brazilian propolis: from chemical composition until the market.** In: WAISUNDARA, Y.V.; SHIOMI, N. Superfood and Functional Food, p 56-97, 2017, p. 56-97, 2017.

BESERRA, F. P. *et al.* Artepillin C as an outstanding phenolic compound of Brazilian green propolis for disease treatment: A review on pharmacological aspects. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 5, p. 2274–2286, 1 maio 2021.

BRASIL. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 3**, DE 19 DE JANEIRO DE 2001. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO, 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **POLÍTICA NACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS.** Brasília, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **PORTARIA Nº 702, DE 21 DE MARÇO DE 2018. MINISTÉRIO DA SAÚDE**, 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 26**, DE 13 DE MAIO DE 2014, Brasília, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº97**, DE 1º DE AGOSTO DE 2016, Brasília, 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução Da Diretoria Colegiada - **Rdc Nº 24**, De 14 De Junho De 2011, Brasília, 2011.

CAVALARO, R. I. *et al.* In vitro and in vivo antioxidant properties of bioactive compounds from green propolis obtained by ultrasound-assisted extraction. **Food Chemistry: X**, v. 4, 30 dez. 2019.

CLAIR, A. L. *et al.* Agroecosystem landscape diversity shapes wild bee communities independent of managed honey bee presence. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 327, p. 107826, 1 abr. 2022.

CONTE, F. L. *et al.* Exploring the antioxidant, anti-inflammatory and antiallergic potential of Brazilian propolis in monocytes. **Phytomedicine Plus**, v. 2, n. 2, 1 maio 2022.

DE FRANCISCO, L. *et al.* Evaluation of radical scavenging activity, intestinal cell viability and antifungal activity of Brazilian propolis by-product. **Food Research International**, v. 105, p. 537–547, 1 mar. 2018.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Número de estabelecimentos agropecuários com apicultura e Venda de produtos**. 2017. Disponível em:< <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6935>>. Acesso: 22 de agosto de 2022.

LAM, K. S. New aspects of natural products in drug discovery. **Trends in Microbiology**, v. 15, n. 6, p. 279–289, 1 jun. 2007.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). **Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), Brasil**, 2023. Disponível em:< <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>>. Acesso: 07 de novembro de 2023.

PARK, YONG. KUN.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, SEVERINO. M. Classificação das própolis brasileira a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Apacame**, v. 58, p. 1–8, 2000.

PEIXOTO, M. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of blends of propolis samples collected in different years. **LWT**, v. 145, 1 jun. 2021.

SILVA, E. C. Da; GALBIATI, C. Própolis: alternativa de tratamento como fitoterápico nas unidades básicas de saúde da família (UBSF). **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 73–87, 22 maio 2018.

TRUSHEVA, B. *et al.* Bioactive constituents of Brazilian red propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, n. 2, p. 249–254, jun. 2006.

WEIS, W. A. *et al.* An overview about apitherapy and its clinical applications. **Phytomedicine Plus**, v. 2, n. 2, p. 100239, 1 maio 2022.

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA PRÓPOLIS COM INFLUÊNCIA DA AMAZÔNIA E DO CERRADO DE MATO GROSSO

RESUMO

A própolis produzida por *Apis mellifera* possui constituintes em sua composição química responsável pela sua atividade antifúngica, que por sua vez tem influência da vegetal e da origem geográfica local. Diante disso, o estudo teve como objetivo analisar a atividade antifúngica dos extratos etanólicos de própolis de Mato Grosso e sua relação com as fontes botânicas. Dez própolis de cinco municípios de Mato Grosso foram avaliadas sobre os microrganismos *Candida glabrata*, *Candida albicans* e *Cryptococcus neoforms*. A atividade antifúngica dos extratos etanólicos de própolis foi avaliada através método de microdiluição em caldo, nas concentrações de 1000 a 1,95 ug/ mL, expresso pela concentração inibitória mínima (CIM). O método de diluição em ágar foi usado para verificar a concentração fungicida mínima (CFM). A análise polínica foi utilizada para identificar as fontes botânicas das amostras de própolis e quantificar a frequência dos tipos polínicos. A atividade antifúngica foi expressa em média e o desvio padrão. A atividade antifúngica foi identificada na própolis 1 com CIM na concentração de 1000 ug/ mL sobre *Candida albicans*, a própolis 3 (1000 ug/ mL) apresentaram porcentagem de inibição sobre *Candida glabrata* e a própolis 4 (1000 ug/ mL) sobre *Cryptococcus neoforms*. As outras sete amostras de própolis não apresentaram atividade antifúngica. Alguns tipos polínicos foram comuns entre as própolis, porém os polens isolados diferenciaram, como *Borreria densiflora* na própolis 1, o gênero *Eupatorium* sp na própolis 3, e *Hyptis* sp., *Myrcia* sp, e *Richardia* sp na própolis 4. Isso indica que a atividade antifúngica da própolis de Mato Grosso está relacionada com a sua origem botânica, pois as fontes botânicas encontradas nas própolis 1, 3 e 4 apresentam atividade antifúngica de acordo com a literatura. A própolis 1, com origem de *Borreria densiflora*, destacou-se devido a atividade antifúngica sobre *C. albicans*.

Palavras-chave: *Apis mellifera*; *Candida* sp.; *Cryptococcus neoforms*; Origem Botânica.

ABSTRACT

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF PROPOLIS FROM MATO GROSSO

The propolis produced by the *Apis mellifera* has components in its chemical composition that are responsible for its antifungal activity. This antifungal effectiveness is significantly influenced by the surrounding vegetation and the local geographic origin. In light of this, the study aimed to analyze the antifungal activity of ethanolic extracts of propolis from Mato Grosso and explore its connection with botanical sources. Ten propolis samples from five municipalities in Mato Grosso were assessed for their activity against the microorganisms *Candida glabrata*, *Candida albicans*, and *Cryptococcus neoforms*. The antifungal activity of ethanolic propolis extracts was evaluated using the broth microdilution method, at concentrations of 1000 to 1.95 ug/mL, expressed by the minimum inhibitory concentration (MIC). The agar dilution method was used to verify the minimum fungicidal concentration (MFC). Pollen analysis was used to identify the botanical sources of propolis samples and quantify the frequency of pollen types. Antifungal activity was expressed as mean and standard deviation. Antifungal activity was identified in propolis 1 with MIC at a concentration of 1000 ug/ mL on *Candida albicans*, propolis 3 (1000 ug/ mL) showed a percentage of inhibition on *Candida glabrata* and propolis 4 (1000 ug/ mL) on *Cryptococcus neoforms*. The other seven samples of propolis did not present antifungal activity. Some pollen types were common among the propolis samples; however, the isolated pollens differed, such as *Borreria densiflora* in propolis 1, the genus *Eupatorium* sp in propolis 3, and *Hyptis* sp., *Myrcia* sp, and *Richardia* sp in propolis 4. This indicates that the antifungal activity of propolis from Mato Grosso is correlated with its botanical origin, as the botanical sources identified in propolis samples 1, 3, and 4 exhibit antifungal properties according to the literature. Notably, propolis sample 1, originating from *Borreria densiflora*, stood out due to its antifungal activity against *C. albicans*.

Keywords: *Apis mellifera*; *Candida* sp.; *Cryptococcus neoforms*; *Botanical Origin*.

INTRODUÇÃO

A própolis é uma resina produzida pelas abelhas através da adição da saliva e resinas das plantas, é coletada em galhos, flores, pólen, botões e exsudatos de árvores. A finalidade da própolis para as abelhas é selar as rachaduras e manter a temperatura da colméia. Essa resina é usada para autodefesa das abelhas, pois a sua composição rica em compostos bioativos como os fenólicos e flavonoides, promove a proteção da colméia contra microorganismos invasores (BERRETTA *et al.*, 2017). A composição química da própolis promove benefício à saúde humana (OLIVEIRA *et al.*, 2021), como atividade antifúngica (SOKOLONSKI *et al.*, 2021), antioxidantes (SHEHATA *et al.*, 2020), antiinflamatória (FURUKAWA *et al.*, 2021), e antibacterianas (ALMUHAYAWI, 2020).

A atividade antifúngica da própolis, produzida em diversas regiões geográficas do Brasil, foi confirmada principalmente sobre o fungo *Candida albicans* (CAMPOS *et al.*, 2023; MOITA *et al.*, 2022; MOREIRA *et al.*, 2022). O avanço na atividade antifúngica da própolis foi verificado na sua atividade sobre outros microorganismos como *Lasiodiplodia theobromae* (MARTINI *et al.*, 2017), *Paracoccidioides brasiliensis* (SANTOS *et al.*, 2021), *Candida tropicalis*, *Trichophyton rubrum* (MOITA *et al.*, 2022) e *Cryptococcus neoformans* (CAMPOS *et al.*, 2023).

Além da busca da atividade antifúngica da própolis sobre diferentes espécies de fungos, encontrar própolis que apresentam as concentrações inibitórias mínimas (CIM) cada vez mais baixas são alvo das pesquisas, como a relatada pela própolis vermelha com CIM 32 µg/mL para *C. albicans* (MOREIRA *et al.*, 2022). Essa informação desperta o interesse farmacológico sobre a própolis devido ao efeito antifúngico evidenciado em baixa concentração inibitória.

Os estudos mais novos sobre a própolis procuram identificar os compostos químicos responsáveis pela atividade antifúngica como o Artepillin C (BESERRA *et al.*, 2021) e a pinocembrina (RIVERA-YAÑEZ *et al.*, 2022), bem como os mecanismos de ação antifúngica. Para isso são usados os testes de efeito combinado (checkerboard) (BARROS *et al.*, 2022), inibição da formação

do tubo germinativo do fungo (RIVERA-YAÑEZ *et al.*, 2022) e efeito *in vitro* da própolis em culturas de fungos (SANTOS *et al.*, 2021).

Os antifúngicos possuem papel importante no combate a diversas espécies de fungos, a maioria dos fármacos, por exemplo os *triazóis*, atuam sobre membrana da célula fúngica, dificultando a síntese de ergosterol (DE MORAES; FELIX; BADIN, 2022). Entretanto, os antifúngos possuem limitações de uso devido à existência de poucos mecanismos de ação, por exemplo interrupção do metabolismo do DNA e inibidores da síntese glucano, por isso a própolis pode ser uma alternativa com mecanismos antifúngicos diferentes (FERREIRA *et al.*, 2024).

Apesar de a atividade antifúngica da própolis ter registro em vários estados do Brasil como Alagoas, Bahia, Ceara e Mato Grosso do Sul (CAMPOS *et al.*, 2023; MARTINI *et al.*, 2017; MOITA *et al.*, 2022; MOREIRA *et al.*, 2022; SANTOS *et al.*, 2021), ainda é incipiente o registro de informações científicas nas própolis provenientes do estado de Mato Grosso, na região Centro-Oeste. A própolis de Mato Grosso tem atividade antibacteriana sobre a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli* com CIM variando de 125 a 1000 mg/mL (BASTOS *et al.*, 2011). Nesse sentido, a pergunta que se pretende responder é “as própolis de Mato Grosso possuem atividade antifúngica associada a sua origem botânica?”. Diante disso, objetivou-se analisar a atividade antifúngica dos extratos etanólicos de própolis de Mato Grosso e sua relação com as fontes botânicas. A hipótese é que a atividade antifúngica da própolis de Mato Grosso esteja relacionada com a origem botânica.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

A área do estudo concentrou-se em cinco municípios do estado de Mato Grosso, que correspondem a Comodoro, Conquista D'Oeste, Nova Lacerda, Reserva do Cabaçal e Cáceres, pertencem a um ou os três biomas mato-grossenses Pantanal, Amazônia e Cerrado. Esses municípios representam o estado de Mato Grosso por estarem inseridos em três mesorregiões distintas das cinco mesorregiões que dividem o Estado. Na mesorregião do Norte Mato-

grossense está inserido o município de Comodoro. Na mesorregião Sudoeste Mato-Grossense estão inseridos três municípios em duas microrregiões distintas, Alto Guaporé (Conquista D'Oeste e Nova Lacerda) e Jauru (Reserva do Cabaçal). Na mesorregião Centro-Sul Mato-Grossense está inserido o município de Cáceres, o único que possui os três biomas, os outros quatro municípios possuem apenas os biomas Amazônia e Cerrado (IBGE, 2021).

Os cinco municípios da área de estudo foram selecionados devido ao seu potencial de produção de mel de 17,3% da produção do ano de 2021 no Mato Grosso, correspondente a 440.216 kg de mel. Comodoro, Cáceres e Reserva do Cabaçal estão nas posições 5º, 7º e 11º com maior número de estabelecimentos agropecuários com apicultura no *ranking* de 18 posições no estado de Mato Grosso. Outra justificativa para a seleção dos municípios foi o potencial de atividade biológica e composição química da própolis (BASTOS *et al.*, 2011; FRANZ *et al.*, 2018; LOUREIRO *et al.*, 2013; LOUREIRO; GALBIATI, 2013).

A área de estudo foi subdividida em 06 apiários em posições geográficas distintas. Em Comodoro, dois apiários, um nos biomas Amazônia e Cerrado (P1, Figura 1) e outro no bioma Cerrado (P2). No município de Reserva do Cabaçal foi estudada a própolis do apiário nos biomas Amazônia e Cerrado (P3), no de Conquista D'Oeste, a própolis do apiário no bioma Amazônia (P4). Em Cáceres, a área de estudo foi subdividida em 2 apiários, um no Cerrado (P5) e um no Pantanal (P6).

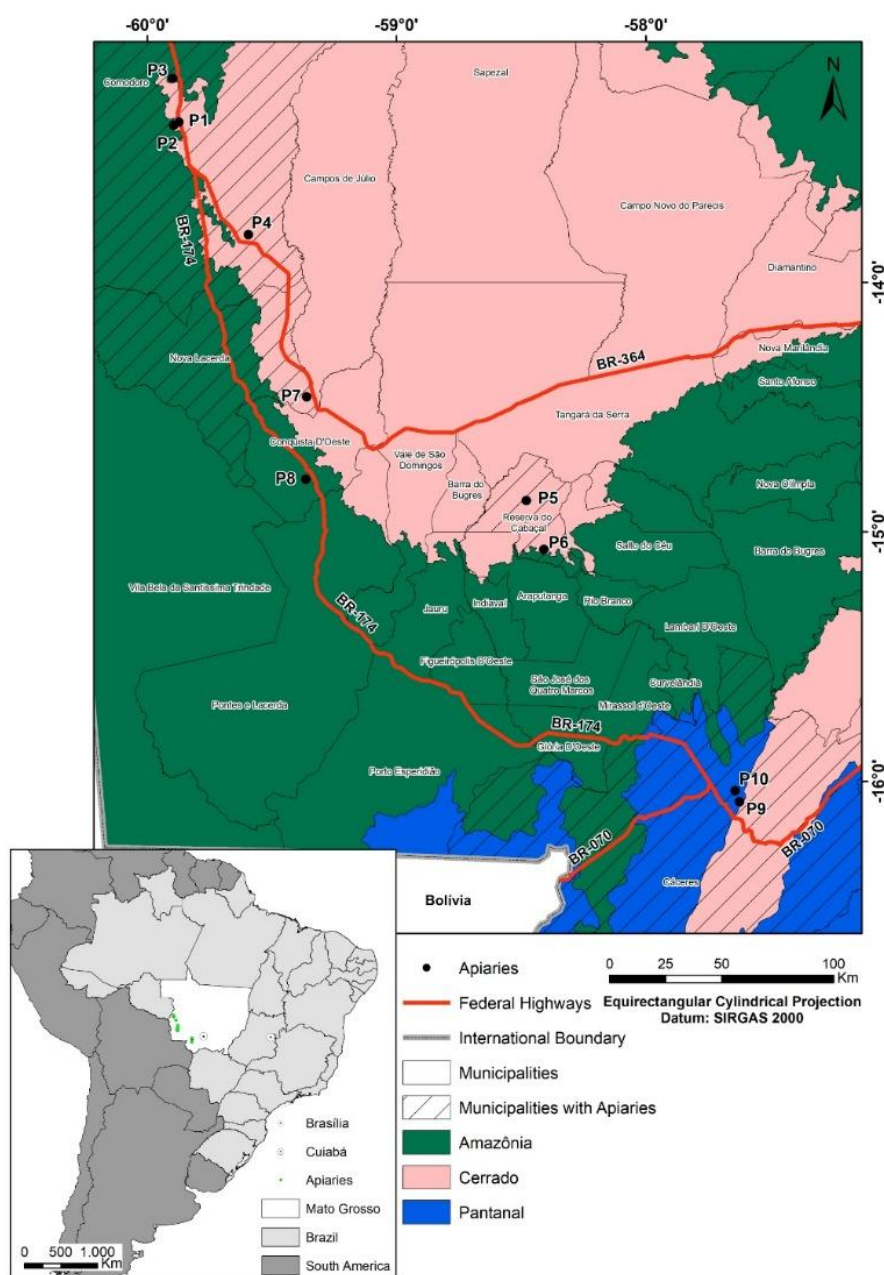


Figura 1. Mapa da localização dos apiários e os biomas correspondentes, dos municípios de Cáceres, Comodoro, Conquista D'oeste e Reserva do Cabaçal.

Amostra de Própolis

Neste estudo, foram selecionadas 06 amostras, correspondendo a 02 amostras de Comodoro, 01 de Reserva do Cabaçal, 02 de Cáceres e 01 de

Conquista D'Oeste. A própolis bruta foi armazenada em *freezer* a -18°C e submetida à limpeza manual para a preparação do extrato seco.

Preparo do Extrato Seco e Etanólico de Própolis

Para a preparação do extrato seco, a própolis foi pesada e adicionado álcool a 70% na própolis bruta (1/1), posteriormente, a resina foi mantida por um período de 14 dias em temperatura ambiente, promovendo-se ligeira agitação manual a cada 24 h. Após esse período, os extratos foram filtrados (filtro Whatman). Após este processo, iniciou-se o preparo do extrato seco, em que o extrato filtrado foi rotaevaporado (40°C, 60 mbar), o sobrenadante foi colocado em cápsulas de porcelana em estufa de secagem com circulação forçada a 40 °C até atingir peso constante, quando o extrato foi acondicionado em frasco sob a proteção da luz e mantido à temperatura de -5°C (MACHADO *et al.*, 2016).

Atividade Antifúngica

Microrganismos

Para a atividade antifúngica utilizaram-se três microrganismos para teste: *Candida glabrata* (ATCC 9030), *Candida albicans* (ATCC 64550) e *Cryptococcus neoforms* (ATCC 32045) que foram obtidas pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Os microrganismos estiveram congelados (- 80°C) em ágar Skim Milk e foram reativados a partir das culturas estoque, cultivadas pelo meio Sabouraud Dextrose por 48 horas a 37°C.

Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A atividade antifúngica foi realizada pelo método de microdiluição em caldo BHI (CLSI, 2008), em microplacas de 96 poços, adicionados 100 µL de caldo BHI enriquecido com dextrose 5%. O caldo BHI foi submetido à correção do pH a 5,6 e adicionados 100 µL da solução de própolis nas concentrações de 1,95 - 1000 µg/mL (diluição seriada) nos poços da microplaca. À suspensão fúngica em solução de NaCl 0,9% estéril (Escala MacFarland 0,5, que corresponde a $1,5 \times 10^8$ leveduras/mL), foram adicionados 100 µL aos poços. Os antifúngicos usados como controle positivo foram Voriconazol, Anidulafungina e

Anfotericina B, nas concentrações 0,03 - 20 µg/mL. As placas foram incubadas por 48 horas em temperatura de 37°C e posteriormente foi realizada a leitura em espectrofotômetro (Elisa) em 450 nm. A inibição do fungo foi expressa em porcentagem resultante da turbidez verificada no comprimento de onda da leitura. A CIM foi definida como a menor concentração do extrato que inibiu o crescimento do fungo. Os testes foram realizados em triplicata, com ensaios independentes (FREIRES *et al.*, 2016). O extrato seco da própolis (0,02 g) foi solubilizado com dimetilsulfóxido de dimetilo – DMSO a 1% para o preparado do extrato etanólico da própolis a 4000 µg/ML.

Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada com base nos resultados obtidos no ensaio CIM, retirando-se uma alíquota de 4,5 µL das amostras dos poços correspondentes ao CIM. Essa alíquota foi subcultivada em 02 placas com Ágar Sabouraud Dextrose (pH corrigido a 5,6%) e incubada por 48 h a 37°C. Observou-se nas placas o crescimento microbiano, logo a CFM foi considerada como a menor concentração de solução que resultou na inibição total do crescimento de microrganismos visíveis nas placas de ágar (CLSI, 2008).

Origem Botânica da Própolis

O perfil polínico das amostras da própolis foi realizado através da análise polínica (BARTH; DUTRA; JUSTO, 1999b). O preparo das lâminas foi realizado através do método de acetólise (ERDITMAN, 1970) e foram confeccionadas duas lâminas para identificação dos grãos de pólen.

O perfil polínico foi determinado pela análise qualitativa e quantitativa. A análise qualitativa corresponde à identificação de tipos polínicos por microscopia e para a análise quantitativa foi realizada a contagem de grão de pólen de cada espécie de planta presente na lâmina. Assim, calculou-se a frequência dos tipos polínicos para posterior agrupamento em três classes de frequência: pólen dominante (PD), com frequência maior que 45% do total de grãos; pólen acessório (PA), com frequência de 16 a 45%; e pólen isolado (PI) menor que 15% (BARTH; DUTRA; JUSTO, 1999).

Análise dos Dados

A atividade antifúngica foi expressa em média e desvio padrão para a Concentração Mínima Inibitória (CIM), Concentração Fungicida Mínima (CFM) e porcentagem de inibição do crescimento ($\mu\text{g/mL}$).

RESULTADOS

A atividade antifúngica foi constatada na própolis 1 sobre *Candida albicans* com concentração inibitória mínima (CIM) de 1000 $\mu\text{g/mL}$, e as outras própolis não tiveram inibição até a concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Entretanto, duas própolis apresentaram porcentagem de inibição dos fungos maior que 90% na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$, e a própolis 3 inibiu o crescimento de *Candida albicans* (95,96%) e *Candida glabrata* (99,04%). (Tabela 1). A própolis 4 inibiu o crescimento de *Candida albicans* (94,18%) e *Cryptococcus neoforms* (92,07%), e em função disso, as própolis 3 e 4 apresentam potencial para estudos futuros. A inibição do fungo das outras três própolis testadas (2, 5 e 6) foi inferior a 90%, as própolis 2 e 6 inibiram no máximo 76% do crescimento de *Candida albicans*. A própolis 5 teve a menor porcentagem de inibição sobre os fungos com, no máximo, 29,26% sobre *Candida albicans*, significando que ocorreu mais de 70% do crescimento do fungo, o que confirma ausência da atividade antifúngica até 1000 $\mu\text{g/mL}$. Apesar da própolis 1 ter atividade antifúngica para *Candida albicans* não houve CIM para *Cryptococcus neoforms* e *Candida glabrata*.

A concentração fungicida mínima (CFM) sobre *Candida glabrata* foi detectada para a própolis 3 (1000 $\mu\text{g/mL}$), o que indica que houve atividade fungicida. Entretanto, não houve CFM sobre *Candida albicans* para a própolis 1, confirmando apenas atividade fungistática (CIM=1000 $\mu\text{g/mL}$).

Os tipos polínicos nas própolis correspondem a 14 famílias e 27 gêneros (Tabela Complementar 1). A família Fabaceae, com a presença de cinco espécies, foi a mais frequente e, dentre elas, a espécie *Mimosa pudica* foi comum a todas as própolis, seguida de Rubiaceae com cinco espécies. A frequência de pólen dominante ($\geq 45\%$) não foi verificada nas amostras de própolis, e os pólenes acessórios foram tipo Anacardiaceae, *Terminalia*, *Mimosa*

debilis, *Mimosa pudica*, *Miconia prasina*, tipo Mimosacea, *Richardia* e *Cecropia* sp. A própolis 3 foi a única na qual se encontrou a espécie de *Richardia* sp.

Os pólenes isolados foram representados por 22 tipos polínicos, quatro dessas espécies ocorrem em apenas uma das própolis, e na própolis 1 identificou-se a espécie *Borreria densiflora*. Na própolis 4 foram encontrados pólenes isolados de *Hyptis* sp., *Myrcia* sp. e *Eupatorium* sp, os quais não foram também encontrados em nenhuma outra própolis. Acredita-se que essas fontes botânicas podem estar associadas à atividade biológica.

Tabela 1. Inibição do crescimento dos fungos (%) em função da própolis da origem geográfica de Mato Grosso, 2022. Valores expressos pela média e desvio padrão. CA: *Candida albicans*; CG: *Candida glabrata*; CN: *Cryptococcus neoforms*.

Própolis ¹	CA	CG	CN	Código ³
1	100,00 ± 0,00	-----	27,77 ± 7,56	P3
2	76,95 ± 5,02	-----	55,30 ± 11,56	P4
3	95,96 ± 5,70	99,04 ± 1,65	60,35 ± 34,11	P6
4	94,18 ± 8,22	-----	92,07 ± 1,67	P7
5	29,26 ± 3,40	-----	14,96 ± 4,62	P9
6	73,71 ± 5,37	-----	48,02 ± 8,11	P10
Antifúngicos				
Anfotericina B	99,88 ± 0,45	<70%	100,00 ± 0,00	
Voriconazol	<70%	<70%	82,61 ± 13,20	
Anidulafungina	93,00 ± 4,57	100,00 ± 0,00	93,26 ± 4,94	

¹Concentração da própolis isolada 1,0 mg/ mL

²----- Não testado

³ Código da amostra da amostra de própolis no banco de dados do Laboratório do Centro de Estudo em Apicultura (CETApis)/ UNEMAT.

DISCUSSÃO

A própolis 1 de Comodoro (Mato Grosso) destacou-se devido à atividade antifúngica sobre o fungo *Candida albicans*, de origem botânica *Borreria densiflora*. As própolis 3 (Reserva do Cabaçal) e 4 (Comodoro) foram promissoras para a inibição de *Candida glabrata* e *Cryptococcus neoforms*. A

atividade antifúngica pode estar relacionada à composição fitoquímica presente em *Eupatorium* sp., *Hyptis* sp., *Myrcia* sp. e *Richardia* sp.

Neste estudo, foram identificadas algumas espécies botânicas nas própolis com atividade antifúngica promissora (P1, P3 e P4), que podem estar associadas à atividade antifúngica, segundo a literatura. Isso ocorreu devido à atividade antifúngica sobre *Aspergillus niger* e *Candida albicans* do extrato de *Borreria* nas frações hexânica e metanólica (WONG *et al.*, 2015). A atividade antifúngica de *Borreria* está associada à presença de composto fenólico, flavonoides e taninos, o que indica ligação da composição química com a fonte botânica para explicar a atividade antifúngica.

A inibição de *Candida glabrata* pela própolis 3 pode estar relacionada ao gênero *Richardia*, devido à *Richardia brasiliensis* ter atividade antifúngica sobre *Lasiodiplodia theobromae* e *Colletotrichum gloesporioides* (MATIAS *et al.*, 2018). Tal atividade está relacionada principalmente com a presença de terpenos e triterpenos presentes na composição de *Richardia brasiliensis* (CHABI-SIKA *et al.*, 2021; MATIAS *et al.*, 2018). Esses compostos químicos acima citados são resultantes do metabolismo secundário e consistem de moléculas de hidrocarbonetos. Outros compostos bioativos identificados em *Richardia brasiliensis* foram flavonoides e fenólicos (CHABI-SIKA *et al.*, 2021; PINTO *et al.*, 2008). A pinocembrina é um flavonoide que atua como composto bioativo em própolis com atividade antifúngica para *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata* (BOUCHELAGHEM, 2022). Na espécie *Richardia scabra*, compostos químicos como flavonoide e triterpenos foram comuns aos de *Richardia brasiliensis* (POONKODI; RAVI, 2016). No extrato de *Richardia scabra*, a atividade antifúngica foi verificada para *Aspergillus fumigates*, *Candida albicans*, *Dreschlera turcica* e *Fusarium verticillioides*, na fração etanólica (MATIAS *et al.*, 2018). Na fração etanólica concentram-se os compostos flavonoides devido a sua polaridade. A atividade antifúngica das própolis foi detectada visto que os compostos majoritários são fenólicos e flavonoides, como na própolis verde e amarela do Brasil e na própolis do Mediterrâneo (POONKODI; RAVI, 2016).

A inibição de *Cryptococcus neoforms* pela própolis 4 pode estar relacionada ao *Eupatorium* sp., *Hyptis* sp. e/ou *Myrcia* sp. devido à atividade antifúngica encontrada nestes gêneros botânicos. Na espécie *Eupatorium cannabinum*, a atividade antifúngica foi identificada para *Candida albicans* na fração de clorofórmio (PURCARU *et al.*, 2015). A atividade antifúngica foi constada em *Eupatorium triplinerve*, a qual pode estar associada ao compostos: esteroides, saponinas e cumarinas. (HUONG; GIANG; TRANG, 2020).

A espécie *Eupatorium odoratum* L tem alto teor de fenólicos totais na fração de acetato de etila (SABARUDIN *et al.*, 2022). Os compostos fenólicos estiveram presentes em maior quantidade na própolis marrom de Cuba e na amarela do Brasil, que foram responsáveis pela atividade antifúngica (BOUCHELACHEM, 2022), compostos estes provenientes de fontes botânicas usadas pelas abelhas (BERRETTA *et al.*, 2017). Na espécie *Eupatorium adenophorum*, confirmou-se que os componentes bioativos são do grupo de fenólicos, como o ácido clorogêncio e flavonoides (LIU *et al.*, 2017).

A própolis 4 de Mato Grosso pode ter inibido *Cryptococcus neoforms* devido a compostos advindos do gênero *Hyptis*, isto porque os extratos etanólico e hexânico de *Hyptis crenata* apresentaram atividade antifúngica para *Cryptococcus neoformans* e *Candida krusei* (VIOLANTE *et al.*, 2012). A atividade antifúngica de *Hyptis suaveolens* foi confirmada para *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, e esteve associada ao ácido cafeico presente na composição química desta planta (ROCHA *et al.*, 2019). Além disso, outros compostos bioativos foram identificados em *Hyptis suaveolens*, como o ácido rosmarínico, apigenina, hesperetina, catequina, quercetina, kaempfero e seus derivados (BONILL-LANDA *et al.*, 2021) como rutina, ácido elágico, ácido gálico e ácido clorogênico (ROCHA *et al.*, 2019). A rutina e a quercetina são flavonoides com atividade antifúngica sobre *Cryptococcus neoforms* (OLIVEIRA *et al.*, 2016). Os principais compostos encontrados em *Hyptis suaveolens* foram ácido gálico e ácido cafeico (BEZERRA *et al.*, 2017). A atividade antifúngica de *Hyptis spicigera* foi detectada sobre outros fungos como *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium proliferatum* e *Fusarium oxysporum*, o que confirma o potencial antifúngico do gênero botânico. Tal

atividade está associada à presença de esteróis insaturados e triterpenos, glicosídeos cardiotônicos, taninos, saponinas e alcaloides (ADAMU *et al.*, 2020). A atividade antifúngica da própolis verde de Taiwan sobre *Candida albicans* e *Candida tropicalis* esteve relacionada com a presença dos compostos bioativos como ácido cafeico, apigenina, kaempferol e rutina (BOUCHELAGHEM, 2022), o que indica a influência da fonte botânica.

Myrcia sp. foi outra origem botânica que pode ter contribuído para a atividade antifúngica da própolis 4 devido a sua composição química. A família Myrtaceae apresentou atividade antifúngica sobre *Candida albicans* na fração hexânica, devido à presença majoritária de terpenos (óxido de cariofileno, trans-verbenol e δ -pineno) (SANTANA *et al.*, 2022). Na espécie *Myrcia tomentosa* foram encontrados sesquiterpenos, hidrocarbonetos e flavonoides como quercetina, O-glicosídeos da quercetina (guaijaverina, juglanina e avicularina) e kaempferol. A quercetina tem atividade antifúngica sobre *Cryptococcus neoformans*, e quando combinada com anfotericina B reduz a sua concentração citotóxica e a concentração inibitória mínima (OLIVEIRA *et al.*, 2016). O flavonoide quercetina-3-O- α -arabinofuranose (avicularina) presente em *Myrcia tomentosa* é o principal responsável por esta atividade antifúngica, especificamente para *Candida albicans* (SILVA SA *et al.*, 2017). A atividade antifúngica da própolis verde e da própolis de Cuba sobre *Candida albicans* está associada à presença de kaempferol (BOUCHELAGHEM, 2022).

Diante do exposto, nota-se que a presença dos pólenes isolados restritos às própolis 1, 3 e 4 (*Borreria densiflora*, *Hyptis* sp., *Myrcia* sp., *Eupatorium* sp., e *Richardia* sp.) pode explicar a atividade antifúngica das própolis, devido aos compostos bioativos presentes nessas espécies de plantas.

A atividade antifúngica das três própolis de Mato Grosso (própolis 1, 3 e 4) está vinculada à origem botânica local e indica que o apicultor que deseja coletar própolis com essa atividade biológica deve restringir o local do apiário em que as espécies botânicas estejam presentes. Os apiários inseridos em vegetação de Amazônia e Cerrado simultaneamente, nos municípios de Comodoro (própolis 1) e Reserva do Cabaçal (própolis 3) atende a restrição do local com a espécie botânica relacionadas com atividade antifúngica. A restrição

do local do apiária para garantir a espécie botânica que atribua a atividade antifúngica foi constatado no município de Conquista D'Oeste, com vegetação de Amazonia (própolis 4).

CONCLUSÃO

A própolis de três municípios de Mato Grosso (P1, P3 e P4) possui atividade antifúngica e porcentagem de inibição sobre as espécies *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Cryptococcus neoforms*. Pressupõe-se que existe ligação da atividade antifúngica e a sua origem botânica devido à identificação das espécies isoladas de *Borreria densiflora*, *Hyptis* sp., *Myrcia* sp., *Eupatorium* sp. e *Richardia* sp. As fontes botânicas encontradas nessas três própolis possuem atividade antifúngica de acordo com a literatura. Esses achados demonstram a importância das fontes botânicas para a produção de própolis, visto que a vegetação no entorno do apiário contribui para a sua atividade biológica. A própolis 1, com origem de *Borreria densiflora*, destacou-se devido a atividade antifúngica sobre *C. albicans*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMU, K. *et al.* Antifungal and phytochemical constituents of aqueous leaves extract of *hyptis spicigera* lam. On *aspergillus* and *fusarium* species. **Fuw Trends In Science And Technology Journal**, v. 5, n. 2, p. 520–524, 2020.
- ALMUHAYAWI, M. S. Propolis as a novel antibacterial agent. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 11, p. 3079–3086, 1 nov. 2020.
- BARROS, D. B. de *et al.* Efeito antifúngico de α -pineno isolado e em associação com antifúngicos frente às cepas de *Candida albicans*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e58711427748, 27 mar. 2022.
- BARTH, O. M.; DUTRA, V. M. L.; JUSTO, R. L. Análise Polínica de algumas amostras de própolis do Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, n. 4, p. 663–667, 1999.
- BASTOS, E. M. A. F. *et al.* Indicadores físico-químicos e atividade antibacteriana de própolis marrom frente à *Escherichia coli*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1255–1259, 2011.

BERRETTA, A. A. *et al.* **Functional Properties of Brazilian Propolis: From Chemical Composition Until the Market.** [s.l: s.n.].

BESERRA, F. P. *et al.* Artepillin C as an outstanding phenolic compound of Brazilian green propolis for disease treatment: A review on pharmacological aspects. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 5, p. 2274–2286, 1 maio 2021.

BEZERRA, J. W. A. *et al.* Chemical composition and toxicological evaluation of *Hyptis suaveolens* (L.) Poiteau (LAMIACEAE) in *Drosophila melanogaster* and *Artemia salina*. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 437–442, 1 nov. 2017.

BONILL-LANDA, I. *et al.* Antibacterial activity and phenolic profile of the methanolic extract from the aerial parts of *Hyptis suaveolens*(Lamiaceae). **Acta Botanica Mexicana**, v. 129, n. 128, p. 1–17, 2021.

BOUCHELACHEM, S. Propolis characterization and antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 4, p. 1936–1946, 1 abr. 2022.

CAMPOS, J. F. *et al.* Antimicrobial Activity of Propolis from the Brazilian Stingless Bees *Melipona quadrifasciata* anthidioides and *Scaptotrigona depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Microorganisms**, v. 11, n. 1, 1 jan. 2023.

CHABI-SIKA, K. *et al.* *Richardia brasiliensis* Collected in Southern-Benin: Phytochemical Screening, Antimicrobial Activity and Toxicity. **Asian Journal of Biology**, v. 13, n. 4, p. 22–33, 13 dez. 2021.

CLSI. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, 3rd ed. Approved standard M27-A3.** Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.

DA SILVA SA, F. A. *et al.* Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Myrcia tomentosa* (Aubl.) DC. leaves. **Molecules**, v. 22, n. 7, 1 jul. 2017.

DE MORAES, S. S.; FELIX, L. S.; BADIN, R. C. Antifúngicos azólicos: utilidade clínica e interações medicamentosas. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 10, p. 66152–66169, 6 out. 2022.

ERDTMAN, G. **The Acetolysis Method.** A Revised Description. *Svensk Botanisk Tidskrift*, v. 54, p. 561-564, 1960.

FERREIRA, R. A. *et al.* Síntese de antimicrobianos: caracterização dos mecanismos de ação, principais características farmacológicas e suas implicações clínicas. **Ciências da Saúde**, V. 28, Ed. 131, 2024.

FRANZ, G. M. *et al.* Análise polínica e compostos fenólicos de mel e própolis do Pantanal, Mato Grosso, Brasil. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 13–25, 22 maio 2018.

FREIRES, I. A. *et al.* Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida* spp. **Journal de Mycologie Medicale**, v. 26, n. 2, p. 122–132, 1 jun. 2016.

FURUKAWA, M. *et al.* Effect of green propolis extracts on experimental aged gingival irritation in vivo and in vitro. **Journal of Oral Biosciences**, v. 63, n. 1, p. 58–65, 1 mar. 2021.

HUONG, D. T. V.; GIANG, P. M.; TRANG, V. M. Coumarins and polar constituents from eupatorium triplinerve and evaluation of their α -glucosidase inhibitory activity. **Journal of Chemistry**, v. 2020, p. 1–8, 2020.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Município de Cáceres**, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/caceres/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Município de Conquista D'oeste**, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/conquista-doeste/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Município de Reserva do Cabaçal**, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/reserva-do-cabacal/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

LIU, B. *et al.* Preparation, phytochemical investigation, and safety evaluation of chlorogenic acid products from *Eupatorium adenophorum*. **Molecules**, v. 22, n. 1, 1 jan. 2017.

LOUREIRO, E. M. *et al.* Produção de própolis de *Apis mellifera* em apiários comerciais de dois municípios de mato grosso na amazônia meridional. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 1–11, 2013.

LOUREIRO, E. M.; GALBIATI, C. Evaluation of the influence of seasonality and landscape on the physicochemical characteristics of propolis. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 4, p. 790–795, 2013.

MACHADO, C. S. *et al.* Comparative Study of Chemical Composition and Biological Activity of Yellow, Green, Brown, and Red Brazilian Propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1–11, 2016.

MARTINI, D. *et al.* Sazonalidade sobre o potencial antifúngico da própolis verde coletada em Campo Grande - MS. **Ciencia Rural**, v. 47, n. 3, 2017.

MATIAS, R. *et al.* Chemical constituents and antifungal potential of the *Richardia brasiliensis* (gomes) ethanolic extract. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 21, p. 457–465, 2018.

MOITA, E. C. dos S. *et al.* Chemical Composition and Antifungal Properties of Apolar Fraction of Green Propolis from Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 32, p. 139–143, 2022.

MOREIRA, R. S. DA S. *et al.* Preparation and evaluation of red propolis and nystatin cyclodextrin inclusion complexes against oral microbiome opportunistic microorganisms. **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 42, 2022.

OLIVEIRA, M. S. *et al.* Chemical composition of volatile compounds in *Apis mellifera* propolis from the northeast region of Pará State, Brazil. **Molecules**, v. 26, n. 11, 1 jun. 2021.

OLIVEIRA, V. M. *et al.* Quercetin and rutin as potential agents antifungal against *Cryptococcus* spp. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 4, p. 1029–1034, 1 out. 2016.

PINTO, D. S. *et al.* Secondary metabolites isolated from *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 3, p. 367–372, 2008.

POONKODI, K.; RAVI, S. Phytochemical investigation and in vitro antimicrobial activity of *Richardia scabra*. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 11, n. 2, p. 348–352, 2016.

PURCARU, T. *et al.* In vitro evaluation of *Eupatorium cannabinum* antimicrobial activity. **Agrolife Scientific Journal**, v. 4, n. 2, p. 1–7, 2015.

RIVERA-YAÑEZ, C. R. *et al.* Antifungal Activity of Mexican Propolis on Clinical Isolates of *Candida* Species. **Molecules**, v. 27, n. 17, 1 set. 2022.

ROCHA, J. E. *et al.* HPLC-DAD analysis and antifungal effect of *Hyptis martiusii* Benth (Lamiaceae) against *Candida* strains. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 9, n. 3, p. 123–128, 1 mar. 2019.

SABARUDIN, S. *et al.* Phytochemical content and antioxidant activity of *Kombakomba* (*Eupatorium odoratum* L.). **Food Research**, v. 6, n. 3, p. 335–341, 1 jun. 2022.

SANTANA, C. B. *et al.* Antimicrobial and insecticidal effects of essential oil and plant extracts of *myrcia oblongata* dc in pathogenic bacteria and *aliphitobius diaperinus*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. 1–10, 2022.

SANTOS, L. A. *et al.* Brazilian Red Propolis shows antifungal and immunomodulatory activities against *Paracoccidioides brasiliensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 277, p. 114181, 15 set. 2021.

SHEHATA, M. G. *et al.* Chemical analysis, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial properties of propolis from different geographic regions. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 2, p. 209–217, 1 dez. 2020.

SILVA, E. C. DA; GALBIATI, C. Própolis: alternativa de tratamento como fitoterápico nas unidades básicas de saúde da família (UBSF). **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 73–87, 22 maio 2018.

SOKOLONSKI, A. R. *et al.* Activity of antifungal drugs and Brazilian red and green propolis extracted with different methodologies against oral isolates of *Candida* spp. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 21, n. 1, 1 dez. 2021.

VIOLANTE, I. M. P. *et al.* Antimicrobial activity of some medicinal plants from the cerrado of the central-western region of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 1302–1308, 2012.

WONG, K. Y. *et al.* Phytochemical screening and antimicrobial potentials of *Borreria* sps (Rubiaceae). **Journal of King Saud University - Science**, v. 27, n. 4, p. 302–311, 1 out. 2015.

EXTRATO DE PRÓPOLIS VERDE E VERMELHO DE MATO GROSSO E COMPOSTOS BIOATIVOS

RESUMO

A própolis é uma resina produzida pelas abelhas, em particular a produzida por *Apis mellifera* é amplamente estudada, devido a sua composição química de fenólicos e flavonoides, a qual explica as atividades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória. O objetivo deste estudo foi avaliar a cor da própolis bruta e do extrato etanólico de própolis de Mato Grosso bem como o teor de fenólicos totais e flavonoides. As própolis do estudo foram coletadas em apiários comerciais dos municípios de Cáceres, Comodoro, Conquista D'oeste e Reserva do Cabaçal, com total de 10 amostras. A cor da própolis bruta foi definida pelo método visual, a cor do extrato etanólico, nas concentrações de 11% e 0,4%, foi descrita de acordo com a carta Munsell. Os compostos bioativos foram quantificados através do método de Folin-Ciocalteu para o teor de fenólicos totais, para o teor de flavonoide foi usada solução de nitrato de alumínio com curva padrão de quercetina. A análise dos dados foi descritiva, expressa por média e desvio padrão para os teores de compostos bioativos. Para a própolis bruta as cores foram; marrom-esverdeadas, marrom-avermelhado e preta. Os extratos de própolis na concentração de 11% apresentaram quatro colorações, vermelho, verde, marrom e preto, enquanto a concentração de 0,4% as colorações foram mais claras, mantendo-se a matiz em 9 própolis. O teor de fenólicos totais foi de 7,62 a 12,64 mg EGA/g e o teor de flavonoides foi de 3,41 a 5,53 mg EQ/g de própolis. As cores dos extratos etanólicos de própolis diferem de acordo com a origem geográfica e o bioma em que está inserido. A própolis verde oliva tem destaque para os maiores os teores de fenólicos totais e flavonoides em comparação com outras própolis e Mato Grosso.

Palavras chave: *Apis mellifera*; Fenólicos; Flavonoides; Carta de Munsell.

ABSTRACT

THE COLOR OF MATO GROSSO'S PROPOLIS EXTRACT AND BIOACTIVE COMPOUNDS

Propolis is a resin produced by bees, and the one produced by *Apis mellifera* is particularly widely studied due to its chemical phenolics composition and flavonoids, which explains its antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities. The objective of this study was to evaluate the color of raw propolis and ethanolic extract of propolis from Mato Grosso concerning the content of total phenolics and flavonoids. The propolis in the study was collected in commercial

apiaries in the municipalities of Cáceres, Comodoro, Conquista d'Oeste and Reserva do Cabaçal, with a total of 10 samples. The color of crude propolis was defined by the visual method, the color of the ethanolic extract, at concentrations of 11% and 0.004%, was described according to the Munsell chart. The bioactive compounds were quantified using the Folin-Ciocalteu method for the total phenolic content, for the flavonoid content an aluminum nitrate solution with a quercetin standard curve was used. Data analysis was descriptive, expressed as the mean and standard deviation for bioactive compounds. Propolis extracts at a concentration of 11% showed four colors, red, green, brown, and black, while at a concentration of 0.004%, the colors were lighter, maintaining the hue in 9 propolis. The total phenolic content ranged from 7.62 to 12.64 mg GA/g and the flavonoid content ranged from 3.41 to 5.53 mg QE/g of propolis. The color of the extracts is not related to the phenolic and flavonoid content. The colors of propolis ethanolic extracts differ according to the geographical origin and the biome in which it is inserted. Olive green propolis stands out for its total phenolic and flavonoid contents.

Keywords: *Apis mellifera*; Phenolics; Flavonoid; Munsell chart.

INTRODUÇÃO

A própolis é uma resina produzida por algumas espécies de abelhas como *Melipona quadrifasciata* (abelha sem ferrão) (CAMPOS *et al.*, 2023) e *Apis mellifera*, e é amplamente estudada devido a sua rica composição química e diversas atividades biológicas como atividades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória (BOUCHELAGHEM, 2022; CORRÊA *et al.*, 2020; DIAS NANI *et al.*, 2019; SOKOLONSKI *et al.*, 2021). Tais atividades biológicas são explicadas pela presença de flavonoides e de fenólicos, que em quantidades maiores podem demonstrar maior potencial nas atividades biológicas (OLIVEIRA *et al.*, 2021). A composição química possui influência da vegetação em que o apiário está inserido, pois as abelhas utilizam-se da resina vegetal para produzir a própolis, portanto a diversidade de biomas no Brasil como Savana (Cerrado), manguezais, mata seca (Caatinga), florestas pluviais (Floresta Amazônica e Mata Atlântica), campo de altitudinal (Campos Rupestres), Pantanal e Floresta de Araucária contribuem para a variedade de compostos químicos na própolis (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2021).

Assim, a composição química da própolis pode variar em função da sua origem botânica e da origem geográfica, inclusive a sua cor difere da própolis verde do sudeste do Brasil e da origem botânica de *Baccharis dracunculifolia*. A origem botânica da própolis vermelha do nordeste do Brasil é a *Dalbergia ecastophyllum* e *Symphonia globulifera* L.f. (CCANA-CCAPATINTA *et al.*, 2020). A própolis verde e vermelha do Brasil possuem alto teor de fenólicos e flavonoides (SALATINO *et al.*, 2005).

Além da cor, alguns dos compostos químicos existentes na própolis podem variar de acordo com a origem botânica e geográfica (BEZERRA *et al.*, 2017), os compostos encontrados na própolis verde oriunda de *Baccharis dracunculifolia* são fenólicos como o Artepelin C, ácido gálico, cafeico e flavonoides, como a kaemferol e a kaempferide (GAZIM *et al.*, 2022). Na própolis do bioma Cerrado de Campo Grande (MS) Brasil, encontram-se sesquiterpenos, hidrocarbonetos e compostos oxigenados, enquanto na própolis vermelha foram identificados compostos químicos como monoterpenos, álcoois fenólicos, sesquiterpenoides, ésteres de ácidos, aldocetonas e hidrocarbonetos (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

A cor dos extratos da própolis é uma das características usadas na classificação das própolis brasileiras, e atualmente possui as cores amarela, castanho, marrom, verde e vermelha (PARK; IKEGAKI; ALENCAR, 2000; TRUSHEVA *et al.*, 2006). Essa classificação brasileira engloba própolis das regiões Sul, Sudeste e Nordeste, que usam como características atividades antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante, além da cor.

Atualmente, estudos usam metodologias específicas de espectrometria para determinar a cor do extrato (CARLI *et al.*, 2022; GNIEWOSZ *et al.*, 2022), entretanto nota-se a dificuldade no uso da metodologia de espectrometria que não nomeia as cores dos extratos, mas informa os comprimentos de onda. Nesse sentido, um método simples e capaz de nomear a cor é a Carta de Munsell, que é uma escala de cor padronizada, simples e acessível, usada para analisar a cor de solos (SILVA SANTOS *et al.*, 2013) e alimentos como o vinho (FAIRCHILD, 2023).

Para a própolis de Mato Grosso há estudos sobre a atividade biológica, como atividade antibacteriana na própolis marrom de Cáceres - MT contra a *Escherichia coli* (BASTOS *et al.*, 2011). A quantificação do teor de fenólicos total na própolis marrom de Cáceres - MT, com média de 61,15 mg EGA/g, foi comparável a outras própolis marrom do Brasil, o que pode explicar sua atividade antibacteriana (FRANZ *et al.*, 2018a). Porém, a cor de extrato de própolis de Mato Grosso não foi caracterizada até o momento. Além disso, como a cor do extrato pode ser influenciada pela origem botânica e geográfica, espera-se que em Mato Grosso existam outras cores de própolis, além da marrom. Isso ocorre pela presença das espécies botânicas da Amazônia, Cerrado, Pantanal e áreas de cultivo agrícola.

Este estudo teve como objetivo avaliar a cor da própolis bruta e do extrato etanólico da própolis de Mato Grosso, bem como os teores de fenólicos totais e flavonoides. Dessa forma, as hipóteses deste estudo foram: H1) As cores dos extratos etanólicos de própolis estão ligadas aos biomas dos apiários e a sua origem botânica e H2) Os extratos mais escuros possuem maiores teores de fenólicos. O teor de fenólico corresponde a um grupo químico da composição da própolis devido a origem botânica (SALATINO *et al.*, 2021).

MATERIAL E MÉTODOS

Área do estudo

A área do estudo congregou cinco municípios do estado de Mato Grosso, que correspondem a Comodoro, Conquista D'Oeste, Nova Lacerda, Reserva do Cabaçal e Cáceres. Alguns destes municípios possuem um ou os três biomas mato-grossenses como Pantanal, Amazônia e Cerrado. Os municípios selecionados representam Mato Grosso devido a estarem inseridos em três mesorregiões distintas das cinco mesorregiões que dividem o Estado. Na mesorregião Norte Mato-Grossense está inserido o município de Comodoro. Na mesorregião Sudoeste Mato-Grossense estão inseridos três municípios em duas microrregiões distintas, Alto Guaporé (Conquista D'Oeste e Nova Lacerda) e Jauru (Reserva do Cabaçal). Na mesorregião Centro-Sul Mato-Grossense está inserido Cáceres, o único município que estão inseridos em os três biomas,

enquanto os outros quatro municípios estão inseridos apenas os biomas Amazônia e Cerrado (IBGE, 2021).

Os cinco municípios da área de estudo foram selecionados devido ao seu potencial de produção de mel de 17,3% da produção do ano de 2021, correspondente a 440.216 kg de mel. Comodoro, Cáceres e Reserva do Cabaçal estão nas posições 5º, 7º e 11º, com maior número de estabelecimentos agropecuários com apicultura no *ranking* de 18 posições no estado de Mato Grosso. Outra justificativa para a seleção dos municípios foi o potencial de atividade biológica e composição química da própolis e do mel (BASTOS *et al.*, 2011; FRANZ *et al.*, 2018; LOUREIRO *et al.*, 2013; LOUREIRO; GALBIATI, 2013).

A área de estudo foi subdividida em 10 apiários em posições geográficas distintas. Comodoro, com quatro apiários, dois no bioma Cerrado (P1 e P4, Figura 1) e dois nos biomas Amazônia e Cerrado (P2 e P3). Nova Lacerda, o apiário esteve no Cerrado (P7) e Conquista D'Oeste, no bioma Amazônia (P8). Reserva do Cabaçal foi subdividido em dois apiários, no bioma Cerrado (P5) e Amazônia e Cerrado (P6). Cáceres foi subdividida em 2 apiários, um no Cerrado (P9) e um no Pantanal (P10).

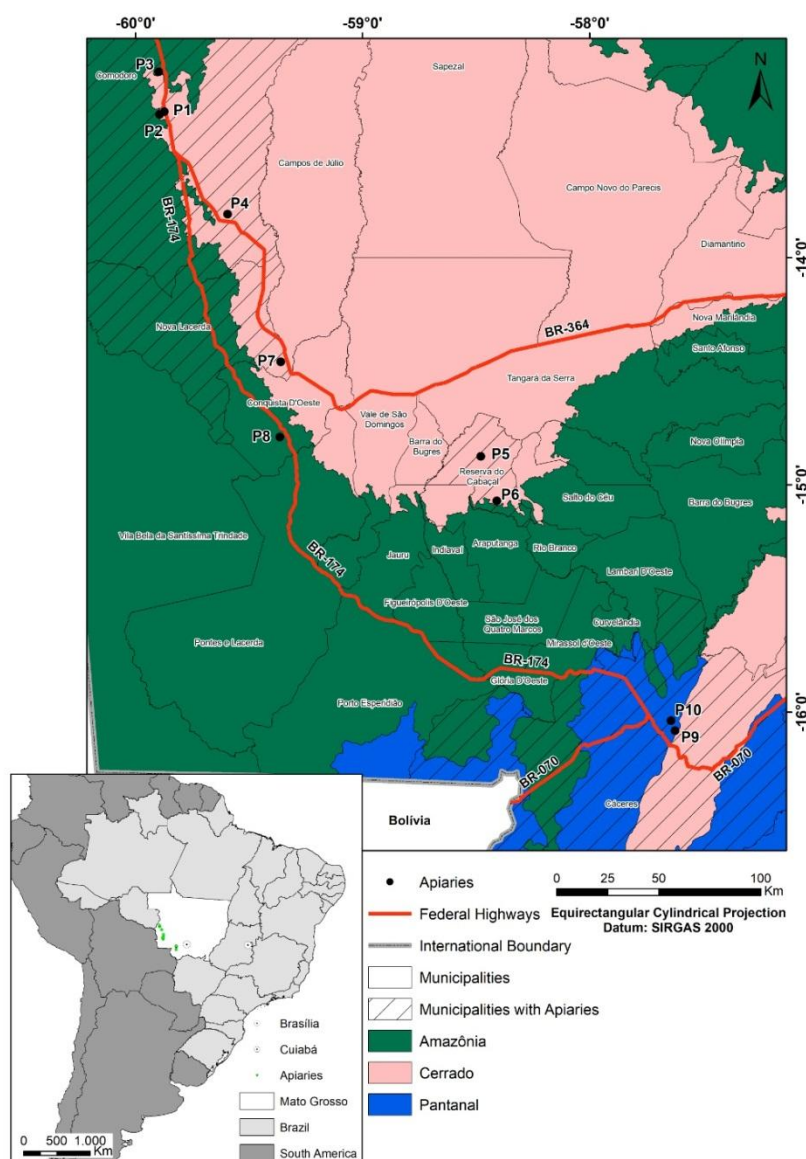


FIGURA 1. Mapa da localização dos apiários e os biomas correspondentes, dos municípios de Cáceres, Comodoro, Conquista D'oeste e Reserva do Cabaçal.

Amostras de própolis

As amostras de própolis produzidas pelas abelhas *Apis mellifera* foram coletadas em apiários comerciais do estado de Mato Grosso, totalizando 10 amostras, 2 amostras no município de Conquista d'Oeste, 4 em Comodoro, 2 em Reserva do Cabaçal, 2 em Cáceres (Figura 1), representadas por 10 amostras (P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9 e P10).

Preparo dos extratos etanólicos de própolis

O extrato de própolis foi preparado após a limpeza manual da resina, usando a concentração peso/volume (g/mL) com álcool etílico (70%). O extrato de própolis foi mantido por um período de 14 dias em temperatura ambiente, antes de ser filtrado em papel qualitativo (Whatman).

O extrato seco foi obtido após o extrato filtrado ser rotaevaporado (40°C, 60 mbar) e seco o sobrenadante em estufa de secagem com circulação forçada a 40°C, até atingir peso constante. O extrato foi acondicionado em frasco sob a proteção da luz e mantida a temperatura de -5°C (MELLO; PETRUS; HUBINGER, 2010).

Caracterização da cor dos extratos etanolicos de própolis

A caracterização da cor da própolis bruta foi determinada a partir da análise visual da resina, o extrato etanólico de própolis foi comparado à Carta de Munsell para a determinação da cor. Os extratos etanólicos de própolis foram comparados com a Carta de Munsell em duas concentrações 110 mg/mL (11%) e 0,4 mg/mL (0,4%), devido à legislação brasileira exigir o mínimo de 11% de extrato seco (m/v) para própolis de qualidade para o consumo humano (BRASIL., 2001). A concentração 0,4% correspondem à máxima em ensaios de atividade biológica de interesse farmacológica. A cor do extrato foi comparada com as cores da Carta de Munsell®, usando 1 mL da própolis em microtubo. Três atributos da coloração avaliados no extrato foram: Matiz – nas cores vermelha, laranja, amarela, marrom, preta; Valor – a claridade ou escuridão de uma cor e Croma – a saturação ou brilho, revelando a nomenclatura da cor (MUNSELL COLLOR, 2023). Duas fontes de iluminação artificial foram utilizadas sobre o microtubo e a Carta de Munsell para a comparação da cor do extrato (Apêndice D1 e D2).

Quantificação do teor de fenólicos e flavonoides

Para quantificar o teor de fenólicos totais em extrato de própolis, foi usada a metodologia de Folin-Ciocalteu, que consiste na preparação de amostras com extrato seco de própolis, Folin-Ciocalteu, solução de carbonato de sódio (20%)

e água destilada. As amostras foram lidas em espectrofotômetro a 760 nm. A quantificação de fenólicos total foi determinada através da curva padrão de ácido gálico. O teor total de fenólicos foi expresso em mg equivalente ao ácido gálico por grama de extrato de própolis EGA/g (ABNT, 2021).

Para quantificar o teor de flavonoide foi usada a metodologia de nitrato de alumínio, que consiste no preparo da amostra com extrato seco de própolis, nitrato de alumínio (10%), solução de acetato de potássio (1 mol/L) e etanol (80%). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 415 nm. O teor total de flavonoides foi expresso em mg equivalente à quercetina por grama de extrato de própolis EG/g, usando uma curva padrão de quercetina (ABNT, 2021).

O teor de fenólicos totais e flavonoides foi expresso em média e desvio padrão.

RESULTADOS

As cores da própolis bruta dos municípios de Mato Grosso foram marrom nos municípios de Comodoro, Reserva do Cabaçal e Conquista D'Oeste (P2, P3, P5, P7 e P8), marrom-avermelhada no município de Comodoro (P1 e P4), marrom-esverdeado em Reserva do Cabaçal (P6) e preta em Cáceres (P9 e P10). (Tabela 1).

As cores dos 10 extratos etanólicos de própolis na concentração de 11% concentram quatro colorações, vermelha, verde, marrom e preta. Os extratos da mesorregião Norte Mato-Grossense foram predominantemente vermelhos, que variam de vermelho até vermelho muito escuro (P1-P4, P8). Os extratos da mesorregião Sudoeste foram marrom (P7) e verde-oliva (P6), os da mesorregião Centro-Sul foram marrom-escuro e preto (P9 e P10), e os de coloração mais escura dentre todos os extratos. (Apêndice C).

No extrato de própolis, na concentração de 0,4% a cor foi vermelha a branca rosada (P1, P2, P3, P4, P5, P7 e P8) e amarelo (P6, P9 e P10) (Anexo B). As colorações dos extratos de própolis na concentração de 0,4% foram mais claras em comparação à concentração de 11%, a matiz foi mantida para todos os extratos de própolis, exceto P2 com matiz 10R e 7,5R, respectivamente (Tabela 1). Isso se deu devido às cores na concentração de 0,4% e 11% estarem

na mesma Carta de Munsell, conforme demonstrado pela coluna Matiz na Tabela 1. Porém, a concentração de 0,4%, com o valor maior, indica cor mais clara.

A cor da própolis bruta diferiu do extrato a 11% para a maioria das própolis de Mato Grosso, exceto para as própolis P7 e P8 que mantiveram a coloração marrom.

Tabela 1. Cor do extrato etanólico de própolis, segundo a carta de cor de Munsell, nas concentrações de 11% e 0,4%. A matiz corresponde ao código de cor da carta de Munsell acrescido do valor, luz e croma.

Amostra	Concentração dos extratos etanolicos de própolis			
	11%		0,4%	
	Matiz	Cor	Matiz	Cor
P1	10R3/6	Dark Red (Vermelho Escuro)	10R6/8	Light Red (Vermelho Claro)
P2	7,5R3/6	Dark Red (Vermelho Escuro)	10R7/8	Light Red (Vermelho Claro)
P3	2,5YR4/6	Red (Vermelho)	2,5YR8/ 1	Light Red (Vermelho Claro)
P4	5R2,5/3	Very Dusky Red (Vermelho Muito Escuro)	5R4/8	Red (Vermelho)
P5	5YR4/6	Yellowish Red (Vermelho- Amarelado)	5YR8/2	Pinkish White (Branco- Rosado)
P6	5Y4/3	Olive (Verde- Oliva)	5Y8/8	Yellow (Amarelo)
P7	5YR4/4	Reddish Brown (Marrom- Avermelhado)	5YR8/4	Pink (Rosado)
P8	5YR3/4	Dark Reddish Brown (Marrom – avermelhado – escuro)	5YR8/2	Pinkish White (Branco- Rosado)
P9	2,5Y2,5/1	Black (Preto)	2,5Y7/8	Yellow (Amarelo)
P10	10YR3/3	Dark Brown (Marrom Escuro)	10YR8/ 6	Yellow (Amarelo)

O teor de fenólicos total das própolis de Mato Grosso foi 7,62 a 12,64 mg EGA/g de própolis e o teor de flavonoides foi de 3,41 a 5,53 mg EQ/g de própolis (Tabela 2). Os extratos de própolis com os maiores teores de fenólicos totais foram P4 e P9, enquanto para teor de flavonoides foram as própolis P4 e P6.

Os resultados acima demonstram que os extratos etanólicos de própolis que tiveram maiores teores de fenólicos totais e flavonoides foram de coloração vermelha e verde, observados nas própolis P4 e P6, respectivamente. O extrato etanólico de Reserva do Cabaçal teve destaque, pois foi o único que apresentou a coloração verde, com teor de flavonoides maior que os demais. As própolis com coloração mais escura, como as própolis de Comodoro (P4) e Cáceres (P9), apresentaram maiores teores de fenólicos totais que as demais.

Tabela 2. Quantificação do teor de fenólicos totais e flavonoides (mg/mL) no extrato etanólico de própolis do Mato Grosso.

Amostra	Municípios	Fenólicos totais	Flavonoides
P1	Comodoro	9,01 ± 0,42	4,25 ± 0,93
P2		9,53 ± 0,72	4,60 ± 0,26
P3		7,81 ± 0,61	4,80 ± 0,14
P4		12,64 ± 0,00	5,24 ±0,14
P5	Reserva do Cabaçal	10,12 ± 0,75	5,00 ± 0,03
P6		10,36 ± 0,47	5,53 ± 0,04
P7	Nova Lacerda	7,62 ± 0,24	3,44 ±0,02
P8	Conquista D'oeste	9,55 ± 0,67	3,41 ± 0,03
P9	Cáceres	11,14 ± 1,18	3,91 ± 0,06
P10		8,36 ± 0,50	3,74 ± 0,10
Média ± desvio		9,61 ± 0,31	4,39 ± 0,27

DISCUSSÃO

A própolis verde-oliva de Reserva do Cabaçal (P6) de Mato Grosso teve destaque devido ao teor de fenólicos e flavonoides, com influência da vegetação dos biomas Cerrado e Amazônia. A própolis verde de Minas Gerais (Sudoeste) possui compostos bioativos, dentre eles com abundância para o ácido cafeico, kaemferol e artepelin C (COELHO *et al.*, 2017), ácido p-cumárico (CAVALARO *et al.*, 2019), crisina (SHEHATA *et al.*, 2020), que são compostos bioativos pertencentes ao grupo de fenólicos e flavonoides.

Outras própolis verdes no Brasil estão presentes no Nordeste. No extrato etanólico de própolis verde de Alagoas constatou-se o alto teor de fenólicos, com destaque para os flavonoides, que foram superiores aos extratos de própolis marrom e vermelho (ANDRADE *et al.*, 2017). O extrato de própolis verde-oliva de Mato Grosso (Reserva do Cabaçal) é mais uma região geográfica do Brasil a ser incluída com a ocorrência do grupo própolis verde (Grupo 12, PARK; Ikegaki; Alencar, 2000). Na própolis verde-oliva de Mato Grosso, o teor de fenólicos foi acima da média das demais própolis estudadas (10,4 mg/mL), assim como o teor de flavonoides (5,5 mg/mL), maior que os demais extratos de Mato

Grosso. Entretanto, na própolis verde-oliva de Mato Grosso, os teores de fenólicos e flavonoides são inferiores aos encontrados nas própolis verdes, com fenólicos superiores a 80 mg/mL e flavonoide superior a 10 mg/mL, originárias de Alagoas e Minas Gerais (ANDRADE *et al.*, 2017; CAVALARO *et al.*, 2019; COELHO *et al.*, 2017).

A composição química da própolis, especificamente os fenólicos e os flavonoides, é influenciada pela flora de cada região, devido à seleção de diferentes plantas como fonte de resina pelas abelhas (SFORCIN; BANKOVA, 2011). A flora que influencia a produção de própolis verde está relacionada ao bioma Cerrado e Mata Atlântica em Minas Gerais (CAVALARO *et al.*, 2019; COELHO *et al.*, 2017), ou apenas na Mata Atlântica em Alagoas (ANDRADE *et al.*, 2017). A própolis verde-oliva de Mato Grosso teve influência da flora do bioma Cerrado, semelhante à própolis verde de Minas Gerais (CAVALARO *et al.*, 2019) e da flora do bioma Amazônia (Figura 1). A Mata Atlântica e o bioma Amazônia têm em comum uma alta diversidade de espécies de árvores e arbustos e fitofisionomias de floresta (MÉIO *et al.*, 2003). A partir dos achados da própolis verde de Mato Grosso, a flora que influencia este grupo de própolis está relacionada com os biomas Cerrado, Mata Atlântica e Amazônia.

A cor dos extratos de própolis vermelha de Mato Grosso não apresentou os maiores teores de fenólicos totais e flavonoides, exceto P4 e P5 que possuem teor de fenólicos e flavonoides acima da média. Nas outras própolis vermelhas, o teor de fenólicos total e flavonoide foram inferiores à média (P1, P2 e P3), indicando que a cor do extrato não explica o teor destes compostos. O bioma Cerrado não explica os maiores teores de fenólicos e flavonoides nas própolis P4 e P5, visto que em P1 e P7 os teores destes compostos foram inferiores à média. A influência da flora do apiário parece explicar os teores de compostos nas própolis P4 e P5 mais do que o bioma.

Anterior ao achado da própolis em Mato Grosso, esta própolis esteve presente no nordeste do Brasil, nos estados de Sergipe (ANDRADE *et al.*, 2017), Bahia, Alagoas (CARVALHO *et al.*, 2019a) e no Sudeste, no estado de Roraima (LÓPEZ *et al.*, 2014). O extrato etanólico de própolis vermelha de Sergipe possui teores de fenólicos em sua composição (ANDRADE *et al.*, 2017), os constituintes

flavonoides mais abundantes foram kaempferol, quercetina (LIMA *et al.*, 2022) e ácidos dicafeoilquínicos (MARTINS *et al.*, 2019). Outro grupo de constituinte na própolis vermelha são os terpenos presentes no extrato hexânico de Barra de Santo Antônio – Alagoas, que são responsáveis pela atividade citotóxica (CARVALHO *et al.*, 2019). A atividade biológica está relacionada com os constituintes como o efeito gastroprotetores associados ao isoflavonoide medicarpin, identificado na própolis vermelha da Bahia (BOEING *et al.*, 2021). Assim, os constituintes químicos da própolis vermelha se diferenciam entre os estados brasileiros. Em Mato Grosso, a própolis vermelha de Comodoro (P4) se assemelha às demais própolis vermelhas do Brasil devido ao maior teor de fenólicos, em comparação com os outros extratos de Mato Grosso. Porém, outras própolis vermelhas da mesorregião Norte Mato-Grossense (P1, P2 e P3) não se destacaram quanto ao teor de fenólicos. Provavelmente, a influência do local do apiário explique a composição química (ALENCAR *et al.*, 2007) e não a região geográfica do município.

A própolis vermelha está presente em regiões de domínio do bioma Mata Atlântica em quatro estados brasileiros (Alagoas, Bahia, Pernambuco e Sergipe) (ANDRADE *et al.*, 2017; BOEING *et al.*, 2021; CARVALHO *et al.*, 2019; LIMA *et al.*, 2019). A própolis vermelha tem origem botânica em *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub. (REGUEIRA-NETO *et al.*, 2018), espécie presente nos domínios fitogeográficos de Amazônia e Mata Atlântica e nos tipos de vegetação de Manguezal e Restinga. A própolis vermelha de Mato Grosso (P4) deve ter origem botânica diferente das outras própolis brasileiras, devido à *Dalbergia ecastaphyllum* não ter ocorrência em Mato Grosso (FLORA E FUNGA, 2023). Outras espécies de *Dalbergia* podem estar presentes na própolis P4 devido à ocorrência das espécies *Dalbergia glandulosa* Benth, *Dalbergia hiemalis* Malme e *Dalbergia miscolobium* Benth no Estado, em área de domínio de Cerrado (FLORA E FUNGA, 2023). Então, a própolis vermelha P4 de Mato Grosso difere das demais própolis vermelhas do Brasil devido a sua origem geográfica do Cerrado e não da Mata Atlântica, e sua origem botânica distinta de *Dalbergia ecastaphyllum*.

Neste estudo, os extratos de própolis com coloração escura, como a vermelha muito escura (P4) e a preta (P9), apresentaram teores de fenólicos totais em abundância em relação à coloração mais clara. Isso confirma a hipótese H2, o que indica uma possível relação entre cor escura e teor de fenólicos total. A coloração mais escura, nas própolis vermelha (Bahia), marrom (Paraná) e verde (São Paulo), demonstra maior teor de compostos fenólicos em relação à própolis amarela (Mato Grosso do Sul) (MACHADO *et al.*, 2016). Este estudo confirma a hipótese das própolis de Mato Grosso de coloração mais escura apresentarem maior teor fenólico. Essa relação de cor escura e polifenóis elevados foi observada no mel do Brasil, Itália e Argentina, revelando que a cor escura do mel tem maior teor de polifenóis (PRETI, TAROLA, 2022; CABRERA *et al.*, 2017), que resulta em mel nutritivo (OLIVEIRA *et al.*, 2012). A associação da cor escura e maior teor de fenólicos total ainda não foi descrita em própolis. A associação dos extratos de própolis de Mato Grosso, de coloração mais escura com os maiores teores de fenólicos, poderá ser investigada em outros estudos futuros para confirmação da hipótese.

CONCLUSÃO

As própolis de Mato Grosso apresentam cores preta, vermelha, marrom e verde, que se diferenciam da origem geográfica e do bioma em que estão inseridas, constatando que o extrato de própolis de Mato Grosso apresenta uma diversidade de cores que está presente em outras regiões do Brasil. A própolis verde-oliva de Mato Grosso com a origem geográfica (Reserva do Cabaçal) e do domínio dos biomas Cerrado e Amazônia. A própolis vermelha foi identificada em Mato Grosso nos domínios biomas Cerrado e Amazônia. Este estudo contribui para novas pesquisas com as própolis vermelha e verde de Mato Grosso devido à presença do teor de fenólicos total e flavonoides.

REFERÊNCIAS

- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Determinação de flavonoides totais - NBR16956-4 DE 03/2021.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Determinação de fenóis totais em própolis in natura - NBR16956-6 DE 07/2021.

- ALENCAR, S. M. *et al.* Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 2, p. 278–283, 5 set. 2007.
- ANDRADE, J. K. S. *et al.* Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129–138, 1 nov. 2017.
- BASTOS, E. M. A. F. *et al.* Indicadores físico-químicos e atividade antibacteriana de própolis marrom frente à *Escherichia coli*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1255–1259, 2011.
- BEZERRA, J. W. A. *et al.* Chemical composition and toxicological evaluation of *Hyptis suaveolens* (L.) Poiteau (LAMIACEAE) in *Drosophila melanogaster* and *Artemia salina*. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 437–442, 1 nov. 2017.
- BOEING, T. *et al.* The gastroprotective effect of red propolis extract from Northeastern Brazil and the role of its isolated compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 267, 1 mar. 2021.
- BOUCHELAGHEM, S. Propolis characterization and antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 4, p. 1936–1946, 1 abr. 2022.
- BRASIL. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 3**, DE 19 DE JANEIRO DE 2001. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO, Brasília, 2001.
- CAMPOS, J. F. *et al.* Antimicrobial activity of propolis from the brazilian stingless bees *melipona quadrifasciata anthidioides* and *scaptotrigona depilis* (hymenoptera, apidae, meliponini). **Microorganisms**, v. 11, n. 1, 1 jan. 2023.
- CARLI, C. *et al.* Production of chitosan-based biodegradable active films using bio-waste enriched with polyphenol propolis extract envisaging food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 213, p. 486–497, 31 jul. 2022.
- CARVALHO, C. DE *et al.* Evidence-based studies and perspectives of the use of brazilian green and red propolis in dentistry. **European Journal of Dentistry**, v. 13, n. 3, p. 459-469, 2019.
- CAVALARO, R. I. *et al.* In vitro and in vivo antioxidant properties of bioactive compounds from green propolis obtained by ultrasound-assisted extraction. **Food Chemistry: X**, v. 4, 30 dez. 2019.
- COELHO, J. *et al.* Composición fenólica y evaluación de la actividad antioxidante de los propóleos del sureste y sur de Brasil. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 1, p. 21–31, 1 jan. 2017.
- CORRÊA, J. L. *et al.* Propolis extract has bioactivity on the wall and cell membrane of *Candida albicans*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 256, n. 112791, p. 112791, 28 jun. 2020.
- DIAS NANI, B. *et al.* Anti-inflammatory and anti-Candida Effects of Brazilian Organic Propolis, a Promising Source of Bioactive Molecules and Functional Food. 2019.

FAIRCHILD, M. D. Visual and photographic assessment of wine color. **Color Research and Application**, v. 48, n. 1, p. 21–31, 1 jan. 2023.

FRANZ, G. M. *et al.* Análise polínica e compostos fenólicos de mel e própolis do Pantanal, Mato Grosso, Brasil. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 13–25, 22 maio 2018.

GAZIM, Z. C. *et al.* Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological investigations of *Baccharis dracunculifolia* DC. (ASTERACEAE). **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 11–27, 28 nov. 2022.

GNIEWOSZ, M. *et al.* Characterization and Antifungal Activity of Pullulan Edible Films Enriched with Propolis Extract for Active Packaging. **Foods**, v. 11, n. 15, 1 ago. 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Município de Comodoro, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/comodoro/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Município de Cáceres, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/caceres/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Município de Conquista D' oeste, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/conquista-doeste/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Município de Reserva do Cabaçal, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/reserva-do-cabacal/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

LIMA, A. B. S. de *et al.* Spectroscopy NIR and MIR toward predicting simultaneous phenolic contents and antioxidant in red propolis by multivariate analysis. **Food Chemistry**, v. 367, 15 jan. 2022.

LIMA, V. H. M. de *et al.* Biological properties of volatile oil from Brazilian brown propolis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 6, p. 807–810, 1 nov. 2019.

LÓPEZ, B. G. *et al.* Phytochemical markers of different types of red propolis. **Food Chemistry**, v. 146, p. 174–180, 2014.

LOUREIRO, E. M. *et al.* Produção de própolis de *Apis mellifera* em apiários comerciais de dois municípios de mato grosso na Amazônia meridional. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 1–11, 2013.

LOUREIRO, E. M.; GALBIATI, C. Evaluation of the influence of seasonality and landscape on the physicochemical characteristics of propolis. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 4, p. 790–795, 2013.

MACHADO, C. S. *et al.* Comparative study of chemical composition and biological activity of yellow, green, brown, and red brazilian propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1–11, 2016.

MARCUCCI, M. C. *et al.* Metodologias acessíveis para a quantificação de flavonoides e fenóis totais em própolis. **Revista Virtual Química**, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2021.

MARTINS, M. L. *et al.* Cytotoxic and antibacterial effect of a red propolis mouthwash, with or without fluoride, on the growth of a cariogenic biofilm. **Archives of Oral Biology**, v. 107, 1 nov. 2019.

MÉIO, B. B. *et al.* Influência da flora das florestas Amazônica e Atlântica na vegetação do cerrado sensu stricto. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 26, n. 4, p. 437–444, 2003.

MELLO, B. C. B. de S.; PETRUS, J. C. C.; HUBINGER, M. D. Desempenho do processo de concentração de extratos de própolis por nanofiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 166–172, mar. 2010.

MUNSELL. **About Munsell Color**. 2023. Disponível em: <<https://munsell.com/about-munsell-color/>>. Acesso: fevereiro 2022.

OLIVEIRA, M. S. *et al.* Chemical composition of volatile compounds in Apis mellifera propolis from the northeast region of Pará State, Brazil. **Molecules**, v. 26, n. 11, 1 jun. 2021.

OLIVEIRA, P. S. *et al.* Ácidos Fenólicos, Flavonoides e Atividade Antioxidante em Méis de Melipona fasciculata, M. flavolineata (Apidae, meliponini) e Apis mellifera (Apidae, apini) da Amazônia. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1728–1732, 2012.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M. Classificação das própolis brasileira a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Apacame**, v. 58, p. 1–8, 2000.

REFLORA. Flora e Funga in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB128461>>. Acesso em: 13 abr. 2023

REGUEIRA-NETO, M. DA S. *et al.* Antitrypanosomal, antileishmanial and cytotoxic activities of Brazilian red propolis and plant resin of Dalbergia ecastaphyllum (L) Taub. **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, p. 215–221, 1 set. 2018.

SALATINO, A. *et al.* Origin and chemical variation of Brazilian propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, n. 1, p. 33–38, 2005.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. How diverse is the chemistry and plant origin of Brazilian propolis? **Apidologie**. v. 52, n.6, p. 1075 - 1097 dez. 2021.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 253–260, 27 jan. 2011.

SHEHATA, M. G. *et al.* Chemical analysis, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial properties of propolis from different geographic regions. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 2, p. 209–217, 1 dez. 2020.

SILVA SANTOS, F. A. *et al.* Physical and chemical attributes of soils of Paraguay River margins. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 8, n. 1, p. 239–249, 30 abr. 2013.

SOKOLONSKI, A. R. *et al.* Activity of antifungal drugs and Brazilian red and green propolis extracted with different methodologies against oral isolates of *Candida* spp. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 21, n. 1, 1 dez. 2021.

TRUSHEVA, B. *et al.* Bioactive constituents of Brazilian red propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, n. 2, p. 249–254, jun. 2006.

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DA PRÓPOLIS DE MATO GROSSO

RESUMO

A própolis brasileira possui características físico-químicas, propriedades biológicas como a atividade antimicrobiana e antioxidante. Este trabalho teve como objetivo avaliar as própolis de Mato Grosso em relação características físico-químicas, com base em atividades biológicas em função da origem geográfica e botânica. Para isso foram analisadas quatorze amostras de própolis de 6 origens geográficas do estado de Mato Grosso. As características físico-químicas analisadas foram cera, massa mecânica, umidade, cinzas (expressas em % m/m) e índice de oxidação (segundos). A quantificação de fenólicos e flavonoides totais foram por método colorimétrico de espectrometria UV. A cor do extrato etanólico própolis foi determinada com auxílio da carta de cor de Munsell. A atividade antioxidante foi analisada pelos métodos DHPP, ON e FRAP. A atividade antimicrobiana foi analisada sobre os fungos e bactérias gram-positivas e negativas, pelo método de microdiluição em caldo. Para identificar a origem botânica das própolis foi utilizada a análise polínica microscópica de lâminas de própolis. Oito própolis constituídas de cores vermelha, verde oliva, marrom e preta (P1, P2, P4, P5, P6, P8, P9 e P10), de 03 mesorregiões de Mato Grosso, possuem qualidade físico-química, atividade antioxidante e atividade antimicrobiana. Das 14 amostras testadas, quatro amostras de própolis não tiveram qualidade físico-química para consumo humano, nove própolis de Mato Grosso apresentaram atividade antimicrobiana e antioxidante que assemelham outras própolis do Brasil. Duas amostras de própolis não apresentam atividade antimicrobiana (P3) e atividade antioxidante (P7). A caracterização de própolis de Mato Grosso com potencial antimicrobiano e antioxidante aumenta o número de própolis promissoras em propriedades farmacológicas no Brasil.

Palavras-chave: Atividade antifúngica; Atividade antibacteriana; Atividade antioxidante; Análise polínica.

INCLUSION OF PROPOLIS FROM MATO GROSSO IN THE BRAZILIAN CLASSIFICATION: PHYSICOCHEMICAL AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS SUMMARY

ABSTRACT

Brazilian propolis has physical-chemical characteristics and biological properties such as antimicrobial and antioxidant activity. This study aimed to evaluate propolis from Mato Grosso concerning physical-chemical characteristics, based on biological activities, depending on geographic and botanical origin. For this,

fourteen propolis samples from six geographic origins in the state of Mato Grosso were analyzed. The physical-chemical characteristics analyzed included wax, mechanical mass, humidity, ash (expressed in % m/m), and oxidation index (seconds). Total phenolics and flavonoids were quantified using a colorimetric UV spectrometry method. The color of the ethanolic propolis extract was determined using the Munsell color chart. Antioxidant activity was analyzed using the DHPP, ON, and FRAP methods. Antimicrobial activity was tested on fungi and gram-positive and gram-negative bacteria using the broth microdilution method. To identify the botanical origin of propolis, microscopic pollen analysis of propolis blades was used. Eight propolis samples consisting of red, olive-green, brown, and black colors (P1, P2, P4, P5, P6, P8, P9, and P10), from three mesoregions of Mato Grosso, have demonstrated physical-chemical quality, antioxidant activity, and antimicrobial activity. Of the fourteen samples tested, four propolis samples did not meet the physical-chemical quality standards for human consumption. Nine propolis samples from Mato Grosso showed antimicrobial and antioxidant activity similar to other Brazilian propolis. Two samples did not exhibit antimicrobial activity (P3) or antioxidant activity (P7). Characterizing propolis from Mato Grosso with antimicrobial and antioxidant potential increases the number of propolis with promising pharmacological properties in Brazil.

Keywords: Antifungal activity; Antibacterial activity; Antioxidant activity; Pollen analysis.

INTRODUÇÃO

A própolis é uma resina produzida por abelhas de espécies como *Apis mellifera* (ANDRADE *et al.*, 2017), *Melipona beecheii* (RAMÓN-SIERRA *et al.*, 2019), *Scaptotrigona aff. postica* (SOUZA *et al.*, 2015) entre outras. Essa resina é formada pela coleta de conteúdo vegetal pelas abelhas, especificamente brotos, galhos, folhas (BERRETTA *et al.*, 2017). Assim, a produção da própolis é resultante da fonte vegetal usada pelas abelhas, utiliza a sua origem geográfica e botânica, o que influencia diretamente a sua composição química (ANJUM *et al.*, 2019; BOUCHELAGHEM, 2022).

A própolis de *Apis mellifera* foi classificada no Brasil a partir da sua origem botânica, origem geográfica, atividades antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante (PARK; IKEGAKI; ALENCAR, 2000). Assim, as própolis brasileiras estão divididas nas seguintes regiões geográficas: Sul, Sudeste e Nordeste

(PARK; IKEGAKI; ALENCAR, 2000; TRUSHEVA *et al.*, 2006). Internacionalmente, não existe uma classificação para própolis, porém a caracterização é um padrão baseado na atividade antioxidante e antimicrobiana e na composição química. O perfil químico da própolis é mais comum em estudo mais recente, como a identificação do composto fenólico artepillin C na própolis verde, associado à atividade biológica (BESERRA *et al.*, 2021).

A cor da própolis é uma característica física, definida pela espécie de planta, que corresponde à origem botânica da qual a abelha coleta a resina vegetal. A própolis vermelha tem como origem botânica a planta *Dalbergia ecastophyllum* (L) Taub e *Shymphonia globulifera* tem como origem geográfica o Nordeste brasileiro, assim como a própolis verde tem origem na *Baccharis dracunculifolia*, de Minas Gerais (BITTENCOURT *et al.*, 2015).

Para determinação da cor do extrato de própolis não possui uma metodologia padronizada até o momento (ANDRADE *et al.*, 2017; BITTENCOURT *et al.*, 2015; DUDOIT *et al.*, 2020). Entretanto, estudos recentes estão utilizando tecnologia avançada de espectrometria para a determinação da cor do extrato de própolis (CARLI *et al.*, 2022; GNIEWOSZ *et al.*, 2022). A limitação dessa tecnologia é a apresentação do comprimento de onda do extrato de própolis, sem a nomeação da cor qualitativamente. Um método simples e prático empregado para analisar a cor de solos (SILVA SANTOS *et al.*, 2013) é a Carta de Munsell, que corresponde à escala de cor padronizada, usada para cor de vinho (FARCHILD, 2021) e flores como crisântemo (LU *et al.*, 2021) como crisântemo. O uso da Carta de Munsell para coloração do extrato de própolis é um método mais simples que a espectrometria, até o momento sem a comparação entre eles.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo caracterizar os extratos de própolis de Mato Grosso com os parâmetros físico-químico e biológico em função da origem geográfica e botânica. Algumas indagações a serem respondidas foram: 1) A cor dos extratos de própolis é definida pela origem geográfica? A própolis vermelha foi registrada na região Nordeste do Brasil, nos estados de Alagoas, Bahia, Paraíba, Pernambuco e Sergipe (BERRETTA *et al.*, 2017). 2) A própolis de Mato Grosso possui atividades

antimicrobiana e antioxidante? 3) O conteúdo de fenólicos e flavonoides da própolis de Mato Grosso é resultante da origem botânica? As atividades biológicas da própolis ocorrem devido à presença do conteúdo de fenólicos e flavonoides que são resultantes da origem botânica (BITTENCOURT *et al.*, 2015). Assim como a própolis do Sudeste do Brasil de cor verde e marrom (FREITAS; BARTH; DA LUZ, 2010; MARTINI *et al.*, 2017). As hipóteses para essas perguntas consistem em: H1) A cor dos extratos de própolis de Mato Grosso tem influência na sua origem geográfica, H2) As própolis de Mato Grosso possuem atividades antimicrobiana e antioxidante devido ao conteúdo de fenólicos e flavonoides, H3) O conteúdo de fenólicos e flavonoides é resultante da origem botânica.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo

A área do estudo concentrou sete municípios do estado de Mato Grosso, em três mesorregiões do estado, que correspondem a Comodoro, Colíder, Nova Santa Helena, Nova Lacerda, Conquista D'Oeste, Reserva do Cabaçal e Cáceres. Na mesorregião Norte Mato-Grossense estão inseridos três municípios em três microrregiões distintas, Parecis (Comodoro), Colíder (Colíder) e Sinop (Nova Santa Helena). Na mesorregião Sudoeste Mato-Grossense estão inseridos três municípios em duas microrregiões distintas, Alto Guaporé (Conquista D'Oeste e Nova Lacerda) e Jauru (Reserva do Cabaçal). Na mesorregião Centro-Sul Mato-Grossense está inserido o município Cáceres, o único incluído em três biomas (Figura 1). Colíder e Nova Santa Helena estão incluído apenas no bioma Amazônia e os outros municípios estão incluídos nos biomas Amazônia e Cerrado (IBGE, 2021).

Os sete municípios da área de estudo foram selecionados devido ao seu potencial de produção de mel de 17,7% da produção do Mato Grosso no ano de 2021, que corresponde a 440.216 kg de mel. Comodoro, Cáceres e Reserva do Cabaçal estão nas posições 5º, 7º e 11º para o número de estabelecimentos agropecuários com apicultura no *ranking* de 18 posições no Estado (IBGE, 2017). Outra justificativa para a seleção dos municípios o potencial de atividade

biológica e a composição química da própolis e do mel (BASTOS *et al.*, 2011; FRANZ *et al.*, 2018; LOUREIRO *et al.*, 2013; LOUREIRO; GALBIATI, 2013).

A área de estudo foi subdividida em 14 apiários em posições geográficas distintas. Comodoro, com quatro apiários, dois no bioma Cerrado (P1 e P4, Figura 1) e dois nos biomas Amazônia e Cerrado (P2 e P3). Colíder e Nova Santa Helena, com um apiário em cada município no bioma Amazônia (P13 e P14). Em Nova Lacerda, o apiário estava no Cerrado (P7), e em Conquista D'Oeste, o apiário no bioma Amazônia (P8). Reserva do Cabaçal foi subdividido em dois apiários, no bioma Cerrado (P5) e Amazônia e Cerrado (P6). Cáceres foi subdividida em quatro apiários, dois no Cerrado (P9 e P12) e dois no Pantanal (P10 e P11).



Figura 1. Localização dos apiários, dos municípios de Conquista d'Oeste, Comodoro, Reserva do Cabaçal e Cáceres, no estado de Mato Grosso e os biomas (Cerrado: rosa, Amazônia: verde; Pantanal: azul que estão inseridos.

Fonte: Dados do IBGE, 2021, processados no *Software* QGis.

Amostras de própolis

As amostras de própolis produzidas pelas abelhas *Apis mellifera* foram coletadas em apiários comerciais do estado de Mato Grosso, totalizando 14 amostras, 2 amostras no município de Conquista D'Oeste, 4 em Comodoro, 2 em Reserva do Cabaçal, 4 em Cáceres, 1 em Nova Santa Helena e 1 em Colíder (Tabela 1), entre os anos de 2005, 2006, 2009, 2011 a 2015, totalizando 08 anos de coleta.

Preparação do extrato de própolis

A própolis bruta que estava armazenada em freezer a -18 °C foi submetida à limpeza manual, após a limpeza a resina foi pesada e adicionado álcool a 70% na concentração de 50%, acondicionada sob a proteção da luz e mantida por um período de quatorze dias em temperatura ambiente, promovendo-se ligeira agitação manual a cada 24 h. Após esse período, os extratos foram filtrados em papel de filtro, resguardando-se o sobrenadante que foi mantido em frasco âmbar. O extrato filtrado foi rotaevaporado, o sobrenadante foi colocado em cápsulas de porcelana em estufa de secagem com circulação forçada a 40°C, até atingir peso constate para a retirada do solvente. O extrato seco foi acondicionado em frasco sob a proteção da luz e mantido a temperatura de -5 °C no laboratório de pesquisa do Centro de Estudo em Apicultura (CETApis), na Universidade do Estado de Mato Grosso, em Cáceres.

Em quatorze amostras foram analisadas as características físico-química, e para as características biológicas e origem botânica foram usadas as amostras que atingiram os critérios de qualidade físico-químico para o consumo humano, normatizado pela legislação brasileira através da instrução normativa Nº 3, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Caracterização físico-químicas

Para as amostras de própolis bruta foi determinada o teor de cera (%m/m), massa mecânica (%m/m), umidade (%), cinzas (%m/m), índice de oxidação, cor e teor de fenólicos total e flavonoides.

Cera

A cera foi determinada, utilizando-se 1,0 g de própolis, adicionando-se 100 mL de água destilada e posteriormente colocada em banho-maria a 40°C por 30 minutos. O resíduo foi aparado por filtração em papel de filtro qualitativo de peso conhecido e o resíduo seco foi levado à estufa a 80°C por 3 horas até peso constante (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2012; DIAS; PEREIRA; ESTEVINHO, 2012).

Massa Mecânica

A massa mecânica foi determinada pelo resíduo da análise de cera, que foi dissolvida em 15 mL da solução clorofórmio-acetona (v:v, 1:1). Após 1 hora de repouso, a solução foi filtrada e o resíduo foi lavado com 15 mL de clorofórmio-acetona (2:1). Em seguida, o resíduo foi deixado em estufa por 3 horas, a 60°C, com temperatura reajustada até 80°C. O material foi resfriado em dessecador e pesado até peso constante (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2012; DIAS; PEREIRA; ESTEVINHO, 2012).

Cinza

Para a determinação da cinza foram usadas 5,0 g de própolis, que foram carbonizadas em bico de busen e incineradas em mufla a 550°C por 3 horas. Após, foram retiradas e esfriadas em dessecador por 1 hora. A operação foi pesada e repetida até peso constante. A cinza foi expressa em teor de cinza em relação à massa fresca (m/m, %) ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2012; DIAS; PEREIRA; ESTEVINHO, 2012).

Umidade

Para determinação de umidade foram usadas 5,0 g da própolis em estufa (DeLeo, tipo 3) a 105 °C por 1 hora, e pesadas em balança analítica após resfriadas em dessecador. As própolis, após resfriadas em dessecador, foram pesadas para o cálculo da diferença do peso inicial e do peso seco. Esse procedimento foi repetido até adquirir peso constante (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2012; DIAS; PEREIRA; ESTEVINHO, 2012).

Índice de oxidação

A atividade de oxidação foi determinada em 0,2 g de própolis bruta, dissolvida em 5 mL de etanol absoluto, por 1 hora de repouso em temperatura

ambiente. A água destilada (100 mL) foi adicionada, agitada em vórtex durante 30 minutos e filtrada em papel de filtro qualitativo. Em seguida, foi adicionado 1 mL dessa solução em tubo de ensaio com 1 mL de ácido sulfúrico (20%), com agitação em vórtex por 1 minuto, depois acrescentou-se 1 gota de permanganato de potássio 0,1 N. O tempo de reação foi determinado com o auxílio de um cronômetro. A análise foi realizada em triplicata (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2012).

Cor

A cor do extrato etanólico de própolis foi determinada pela comparação com a Carta de Munsell, em duas concentrações 110 mg/mL (11%) e 0,4 mg/mL (0,4%), devido à legislação brasileira exigir o mínimo 11% de extrato seco (m/v) para própolis de qualidade para o consumo humano (BRASIL, 2001). A concentração 0,4% corresponde à máxima em ensaios de atividade biológica de interesse farmacológica. A cor dos extratos foi comparada com as cores da Carta de Munsell®, usando 1 mL da própolis em microtubos. Três atributos foram avaliados na coloração: Matiz - nas cores vermelha, laranja, amarela, marrom, preta; Valor - a claridade ou escuridão de uma cor; e Croma - a saturação ou brilho, revelando a nomenclatura da cor, originalmente em inglês (MUNSELL COLOR, 2022). Duas fontes de iluminação artificial foram utilizadas sobre os microtubos e a Carta de Munsell para a comparação da cor. A cor do extrato de própolis foi determinada recentemente nas concentrações de 0,5 a 10% (GNIEWOSZ *et al.*, 2022; IBRAHIM; ALQURASHI, 2022).

Determinação de fenólicos totais

Para se determinar o teor de fenólicos total em extrato de própolis, utilizou-se o método Folin-Ciocalteu, cuja quantificação de fenólicos total foi determinada através da curva padrão de ácido gálico. O conteúdo total de fenólicos foi expresso em mg equivalente ao ácido gálico por grama de extrato de própolis (MARCUCCI *et al.*, 2021).

Para a análise de quantificação de flavonoides em extrato de própolis foi adicionada uma alíquota do extrato de própolis, solução de nitrato de alumínio e solução de acetato de potássio e etanol 80%. A quantificação de flavonoides foi determinada através da curva-padrão de quercetina. O conteúdo total de

flavonoides foi expresso em mg equivalente à quercetina por grama de extrato de própolis (MARCUCCI *et al.*, 2021).

Determinação de flavonoides

Para determinar o teor de fenólicos total em extrato de própolis, utilizou-se o método Folin-Ciocalteu, cuja quantificação de fenólicos total foi determinada através da curva-padrão de ácido gálico. O conteúdo total de fenólicos foi expresso em mg equivalente ao ácido gálico por grama de extrato de própolis (MARCUCCI *et al.*, 2021).

Para a análise de quantificação de flavonoides, em extrato de própolis, foi adicionada uma alíquota do extrato de própolis, solução de nitrato de alumínio e solução de acetato de potássio e etanol 80 %. A quantificação de flavonoides foi determinada através da curva-padrão de quercetina. O conteúdo total de flavonoides foi expresso em mg equivalente à quercetina por grama de extrato de própolis (MARCUCCI *et al.*, 2021)..

Caracterização biológica

A caracterização biológica correspondeu às atividades antioxidante, antimicrobiana e a origem botânica da própolis.

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de sequestro do radical livre 2,2-diphenil-1-picrilhidrazila (DPPH), pela captura do radical livre óxido nítrico (NO) e pela redução do íon férrico (FRAP). As atividades antioxidantes foram expressas em termos de concentração eficiente (IC₅₀%), que correspondem à concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% a concentração inicial do radical. Para isso foi usada a média da concentração da própolis na equação, que relacionou o percentual de atividade com a concentração da substância em teste, ou seja, quanto menor o valor de IC, maior é a capacidade antioxidante da substância (MARCCUCI *et al.*, 2020). O ácido ascórbico foi utilizado como padrão positivo para os três ensaios.

Sequestro do radical livre 2,2-diphenil-1-pycrilhidrazila (DPPH)

A atividade antioxidante foi avaliada pelo sequestro do radical DPPH (KARKI *et al.*, 2011). O método é baseado na capacidade do DPPH em reagir com doadores de hidrogênio na presença da substância antioxidante DPPH que

recebe H^+ , então é reduzido (MARCCUCI *et al.*, 2020). As amostras de própolis foram diluídas em solução alcoólica nas concentrações de 400 - 3,62 $\mu\text{g/mL}$ (diluição seriada) e adicionada solução alcoólica do radical DPPH (0,15 - 40 $\mu\text{g/mL}$) em microplacas de 96 poços. As amostras foram testadas em triplicatas independentes (DIAS; PEREIRA; ESTEVINHO, 2012). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Elisa) a 515 nm após 30 minutos de incubação no escuro.

A atividade antioxidante (AA%) foi expressa como o percentual de inibição do radical DPPH.

Captura do radical livre óxido nítrico (NO)

A captura do radical livre NO foi realizada conforme (RAO, 1997), cujo método é caracterizado pelo óxido nítrico formado com o reagente de Griess. Nesse sentido, as amostras foram preparadas em poços da placa de 96 poços na sequência das colunas: nitrito como curva-padrão, extrato de própolis na concentração de 450 μL , ácido ascórbico como controle positivo na concentração de 150 μL e nitroprussiato como fator de correção. A leitura foi realizada em duplicata após a incubação de 150 minutos a 25°C, e foram acrescentados 60 μL do reagente de Griess em cada poço microplaca, realizou-se a leitura e aguardados 10 minutos em repouso no escuro, procedendo-se depois à leitura em espectrofotômetro (Elisa) a 540 nm. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Poder redutor do íon férrico (FRAP)

A atividade antioxidante foi avaliada quanto ao poder redutor de íon férrico originalmente desenvolvido por (BENZIE; STRAIN, 1999; MOYO *et al.*, 2010). As amostras de própolis foram solubilizadas em 70% de metanol e 30% de água. A análise foi realizada por microdiluição seriada em placa de 96 poços com concentração inicial de 2000 $\mu\text{g/mL}$. As amostras foram testadas em triplicatas independentes e misturadas ao tampão fosfato de sódio (0,2 M, pH 7,2) e ferricianeto de potássio (1%). A mistura foi incubada a 50°C por 20 minutos. Após esse processo, foram adicionados à solução de ácido tricloroacético, água destilada e cloreto férrico (0,1%), seguida por uma segunda incubação no escuro

por 30 minutos e lidas a 630 nm, em espectrofotômetro (Elisa). Quanto maior a absorbância da mistura, maior foi o poder redutor.

Atividade antimicrobiana

Microrganismos

As bactérias utilizadas para atividade antibacteriana foram: *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Streptococcus epidermidis* ATCC12228, *Streptococcus pyogenes* ATCC19615, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella typhimurium* ATCC14028, *Escherichia coli* ATCC25922, *Shigella flexneri* ATCC12022 e *Helicobacter pylori* ATCC43504, cepa provenientes do American Type Culture Collection. As cepas fúngicas são: *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* ATCC22019, *Candida tropicalis* ATCC750, *Cryptococcus neoformans* ATCC32045, *Candida albicans* ATCC64550.

As cepas bacterianas foram mantidas congeladas meio em ágar Skim Milk, o descongelamento foi por subcultivo dois dias antes, e as bactérias foram reativadas a partir das culturas de estoque em caldo BHI por 3 a 5 dias, em temperatura de 37°C. A bactéria *Helicobacter pylori* foi cultivada em ágar BHI enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de carneiro por 3 a 5 dias, em temperatura de 37°C em ambiente microaerófilico.

Para a determinação da atividade antimicrobiana da própolis, utilizou-se o método de microdiluição em caldo (CLSI, 2008) em placas de 96 poços, para todos os microrganismos. As concentrações do extrato foram de 8000 a 15,625 µL/mL para bactérias e 1000 a 1,95 µL/mL para fungos (diluição seriada 1:2). A suspensão bacteriana e/ou fúngica usada em solução de NaCl estéril, na Escala MacFarland 0,5, corresponde a $1,5 \times 10^8$ leveduras/mL. Como controle positivo, foram utilizados os antibióticos estreptomicina, ciprofloxacina e claritromicina para as bactérias e Itraconazol para os fungos, nas concentrações 0,03 - 20 µg/mL (leveduras). As microplacas foram incubadas a 37°C por 24 h (bactérias) e 72 h para *H. pylori* e 48 h leveduras. A leitura das placas foi realizada em espectrofotômetro 450 nm. Considerou-se a concentração inibitória mínima (CIM), a que foi capaz de inibir o crescimento antimicrobiano e a concentração

microbiana mínima (CBM ou CFM). As concentrações foram expressas em µg/mL.

Determinação da concentração microbiana mínima

Para determinar a concentração microbiana mínima foram analisadas as reações dos poços dos extratos que apresentaram inibição no crescimento bacteriano no ensaio de microdiluição em caldo (CBM) (CABRAL *et al.*, 2009). Uma alíquota de 6 µL retirada dos poços de própolis foi pipetada em placas de Petri com ágar BHI, enriquecido com sangue de carneiro e soro bovino fetal e Skirrow®. As placas foram incubadas em ambiente anaeróbico, à temperatura de 37°C por 3 a 5 dias, observando o crescimento bacteriano. Para a concentração fúngica mínima usou-se o mesmo método com a diferença do meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose (CLSI, 2008).

Origem botânica

O perfil polínico das amostras da própolis foi realizado através da análise polínica (BARTH; DUTRA; JUSTO, 1999). O preparo das lâminas foi realizado através do método de acetólise (ERDTMAN, 1970), e após esse processo, o sedimento é contido no fundo do tubo e são confeccionadas duas lâminas para identificação dos grãos de pólen.

O perfil polínico foi determinado pela análise qualitativa e quantitativa por microscopia. A análise qualitativa identificou os grãos de pólen por comparação com o acervo do laboratório CETApis. Para a análise quantitativa, os pólen foram agrupados em três classes de frequência: pólen dominante (PD) frequência de 45% ou mais do total de grãos; pólen acessório (PA) com frequência de 15 a 45%; e pólen isolado (PI) menor que 15% (BARTH; DUTRA; JUSTO, 1999).

Análise de dados

Os resultados foram analisados por meio de estatística descritiva, com a média e o desvio-padrão para caracterização químico-física (cera, massa mecânica, umidade, índice de oxidação, fenólicos totais, flavonoides e cor) e atividade antioxidante.

A origem botânica da própolis de Mato Grosso foi analisada em função de três classes de frequência polínica: pólen dominante (PD), com frequência do

pólen acima de 45%; pólen acessório (PA) 15 a 45%; e pólen isolado (PI) menor que 15%.

RESULTADOS

Características físico-químicas

As características físico-químicas demonstram que 10 amostras estavam dentro dos limites mínimos e máximos estabelecidos pela legislação (P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9 e P10), para os requisitos de cera, massa mecânica, umidade, cinza e índice de oxidação (Tabela 1a-b). Essa demonstração evidenciou que essas amostras possuem qualidade para o consumo humano, uma vez que as características atendem aos parâmetros preconizados pela legislação brasileira.

Ao contrário disso, 04 amostras de própolis não apresentaram qualidade (P11, P12, P13 e P14), uma vez essas amostras não atenderam aos limites da legislação brasileira para cera de, no máximo, 24%, e índice de oxidação até 22 segundos.

Tabela 1a. Características físico-químicas da própolis bruta expressas em média e desvio padrão. Cera % (m/m); massa mecânica % (m/m).

Amostra	Município	Cera	Massa Mecânica
P1 a P4	Comodoro	55,27 ± 8,35	35,27 ± 6,95
P5	Reserva do Cabaçal	44,28 ± 5,38	46,57 ± 3,41
P6		42,52 ± 3,12	46,77 ± 11,40
P7	Nova Lacerda	52,18 ± 7,57	40,32 ± 3,94
P8	Conquista D'Oeste	61,85 ± 10,9	37,85 ± 11,15
P9	Cáceres	9,43 ± 5,76	67,88 ± 7,82
P10		34,09 ± 7,19	55,38 ± 5,28
P11		25,7 a 36,12	45,77 a 69,83
P12		-----	44,78 ± 6,83
P13	Colíder	67,3 a 29,4	22,43 ± 9,69
P14	Nova Santa Helena	62,1 a 16,5	4,41 ± 0,64
Legislação¹		Máximo 25%	Máximo 40%

-----: Não testado, ¹Instrução normativa Nº 3, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Tabela 1b. Características físico-químicas da própolis bruta expressa em média e desvio padrão. Umidade % (m/m), Cinzas % (m/m), Índice de oxidação (tempo segundos)

Amostra	Municípios	Umidade	Cinzas	Índice de Oxidação
P1 a P4	Comodoro	-----	0,61 ± 0,37	40,09 ± 36,15
P5	Reserva do	5,50 ± 0,77	1,50 ± 0,42	2,79 ± 1,07
P6	Cabaçal	5,92 ± 0,57	3,43 ± 3,11	2,64 ± 0,85
P7	Nova Lacerda	4,57 ± 0,85	2,42 ± 0,89	31,05 ± 23,23
P8	Conquista D'Oeste	3,60 ± 1,02	1,35 ± 0,07	34,69 ± 19,71
P9	Cáceres	10,63 ± 1,54	5,01 ± 1,12	2,35 ± 0,79
P10		6,31 ± 1,37	4,84 ± 0,61	18,33 ± 17,47
P11		-----	-----	302 a 519
P12		-----a	-----	37,41±20,74
P13	Colíder	6,88 a 3,00	-----	22,43± 9,40
P14	Nova Santa Helena	5,40 a 3,31	-----	28,45 ± 12,33

Legislação¹

Máximo 8%

Máximo 5%

Máximo a 22'

-----: Não testado, ¹Instrução normativa N° 3, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

A cor do extrato etanólico de própolis foi distinta, com oito colorações, dentre elas a matiz vermelha (P1, P2 e P4); matiz amarela (P6 e P9); e a matiz marrom (P3, P5, P7 e P10), para as 10 amostras com qualidade para características físico-químicas. A cor do extrato de própolis do município de Comodoro possui tonalidade vermelha (P1, P2, P3 e P4), que predominou mesmo na amostra P3, que possui matiz amarela (Tabela 2). Os extratos de Reserva do Cabaçal foram amarelo-avermelhados (P5) e verde-oliva (P6). A cor do extrato com tonalidade marrom esteve presente nas amostras do município de Conquista D'Oeste, com marrom-avermelhado (P7) e marrom-avermelhado -

escuro (P8), e de Cáceres com marrom-escuro (P10). Na amostra de Cáceres, o extrato teve a cor preta (P9).

Tabela 2. Cor do extrato etanólico de própolis, segundo a Carta de cor de Munsell. A matiz corresponde ao código de cor da carta de Munsell acrescido do valor, luz e croma.

Amostra	Matiz	Concentração do extrato a 11%
P1	10R3/6	Dark Red (Vermelho Escuro)
P2	7,5R3/6	Dark Red (Vermelho Escuro)
P3	2,5YR4/6	Red (Vermelho)
P4	5R2,5/3	Very Dusky Red (Vermelho Muito Escuro)
P5	5YR4/6	Yellowish Red (Vermelho-Amarelado)
P6	5Y4/3	Olive (Verde-Oliva)
P7	5YR4/4	Reddish Brown (Marrom-Avermelhado)
P8	5YR3/4	Dark Reddish Brown (Marrom avermelhado escuro)
P9	2,5Y2,5/1	Black (Preto)
P10	10YR3/3	Dark Brown (Marrom Escuro)
P11	-----	-----
P12	-----	-----
P13	-----	-----
P14	-----	-----

--- não testada

O teor de fenólicos totais foi de 7,62 a 194 mg GA/g de própolis, o teor de flavonoides foi de 3,41 a 27,09 mg QE/g de própolis (Tabela 3). As amostras com maiores teores de fenólicos totais e flavonoides foram P4, P9 e P10, que estiveram entre as atividades antioxidantes.

Tabela 3. Quantificação de fenólicos totais (mg GA/g) e flavonoides totais (mg QE/g) do extrato etanólico de própolis dos municípios de Mato Grosso Brasil.

Amostra	Município	Fenólicos	Flavonoides
P1	Comodoro	9,01 ± 0,42	4,25 ± 0,93
P2	Comodoro	9,53 ± 0,72	4,60 ± 0,26
P3	Comodoro	7,81 ± 0,61	4,80 ± 0,14
P4	Comodoro	12,64 ± 0,00	5,24 ± 0,14
P5	Reserva Do Cabaçal	10,12 ± 0,75	5,00 ± 0,03
P6	Reserva Do Cabaçal	10,36 ± 0,47	5,53 ± 0,04
P7	Nova Lacerda	7,62 ± 0,24	3,44 ± 0,02
P8	Conquista D'oeste	9,55 ± 0,67	3,41 ± 0,00
P9	Cáceres	11,14 ± 1,18	3,91 ± 0,06
P10	Cáceres	8,36 ± 0,50	3,74 ± 0,10

Atividade biológica

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante das própolis (IC_{50%}) variou entre 3,56 a 87,59 µg/mL para o método de DPPH, IC_{50%} de 222,40 a 325,86 µg/mL para óxido nítrico e IC_{50%} de 19,95 a 111,49 µg/mL para FRAP (Tabela 4). Em sete amostras, a atividade antioxidante foi constatada nos dois métodos DHPP e FRAP (P1, P2, P4, P5, P6, P9 e P10), diferentemente das demais amostras. (Tabela 4). Todas as própolis tiveram o IC_{50%} > 50 µg/ mL pelo menos em uma amostra e em um dos métodos (DPPH ou FRAP), as própolis que tiveram atividade antioxidante nos dois métodos foram P1, P3, P4, P5 e P6, consideradas com menor atividade antioxidante comparativa às demais.

Tabela 4. Atividade antioxidante, nos métodos de DHPP, Óxido Nítrico e FRAP (IC₅₀% própolis = µg/mL ± SD e IC₅₀% ácido ascórbico = µg/mL ± SD) do extrato etanólico de própolis dos municípios de Mato Grosso Brasil.

Amostra	Mun	DPPH	ON	FRAP
P1	Co	11,74 ± 0,05 a 38,39 ± 5,25	295,69 ± 0,04	29,96 ± 0,15
P2	Co	9,77 ± 0,03 a 57,20 ± 6,10	222,40 ± 0,01	36,90 ± 0,17
P3	Co	43,45 ± 0,03	325,86 ± 0,03	111,49 ± 0,21
P4	Co	6,65 ± 0,14 a 35,27 ± 0,86	265,37 ± 0,02	19,95 ± 0,16
P5	RC	11,39 ± 0,14	300,49 ± 0,02	20,0 ± 0,14
P6	RC	9,37 ± 0,02	301,12 ± 0,03	22,99 ± 0,09
P7	NL	37,36 ± 0,02 a 87,59 ± 21,21	SA	62,27 ± 0,11
P8	CD	3,56 ± 0,28 a 77,33 ± 1,97	SA	46,71 ± 0,09
P9	CA	46,77 ± 0,02 a 66,50 ± 6,45	SA	52,34 ± 0,17
P10	CA	50,89 ± 0,05 a 58,26 ± 6,38	SA	67,87 ± 0,07
Ácido ascórbico		1,38 ± 0,04	51,78 ± 0,02	14,95 ± 0,08

Mun: Município, Co: Comodoro, RC: Reserva do Cabaçal, NL: Nova Lacerda, CD: Conquista D'Oeste, CA: Cáceres,

SA Sem atividade antioxidante até a concentração testada de <450 µL

Atividade antimicrobiana

Todos os extratos etanólicos de própolis apresentaram concentração inibitória mínima (CIM) para todas as cepas testadas, entretanto, foram selecionadas 07 amostras, em que a inibição de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*

aureus e *Staphylococcus epidermidis* foi até 1,0 mg/mL (P1, P2, P4, P6, P7, P9 e P10) (Tabela 5).

A atividade antifúngica foi identificada na concentração inibitória mínima (CIM) de até 1,0 mg/mL para oito amostras (P1, P2, P3, P4, P7, P8, P9 e P10) para *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans* e *Candida glabrata* (Tabela 6). Apenas a amostra P5 não teve atividade antimicrobiana até 1,0 mg/mL.

Tabela 5. Concentração inibitória mínima (CIM) expressos em mg/mL, do extrato etanólico de própolis em relação as bactérias gram-positivas e gram-negativas e aos fungos.

Concentração Inibitória Mínima (CIM) para bactérias mg/mL										
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Bs	---	4,0	---	---	---	---	---	---	2,0	2,0
Bc	---	4,0	---	---	---	---	---	---	2,0	2,0
Ef	---	4,0	>1,0	---	>1,0	>1,0	---	---	4,0	0,25
Ec	2,0	2,0	---	1,0	---	---	2,0	2,0	---	---
Hp	1,0	>1,0	>1,0	>1,0	1,0	1,0	1,0	>1,0	>1,0	>1,0
Kp	---	1,0	---	--	---	---	---	---	1,0	1,0
Pa	---	1,0	---	---	---	---	---	---	2,0	1,0
St	---	2,0	---	---	---	---	---	---	4,0	2,0
Sf	2,0	2,0	---	2,0	---	---	2,0	2,0	2,0	2,0
As	4,0	4,0	---	1,0	---	---	8,0	4,0	8,0	4,0
Se	---	2,0	>1,0	---	>1,0	>1,0	---	---	4,0	0,06
Sp	4,0	2,0	---	4,0	---	---	2,0	4,0	4,0	4,0

Bactérias: *Bs*: *Bacillus subtilis*, *Bc*: *Burkholderia cepacia*, *Ef*: *Enterococcus faecalis*, *Ec*: *Escherichia coli*, *Hp*: *Helicobacter pylori*, *Kp*: *Klebsiella pneumoniae*, *Pa*: *Pseudomonas aeruginosa*, *St*: *Salmonella typhimurium*, *Sf*: *Shigella flexneri*, *Sa*: *Staphylococcus aureus*, *Se*: *Staphylococcus epidermidis*, *Sp*: *Streptococcus pyogenes*

--- não testado

Continuação da Tabela 5

Concentração Inibitória Mínima (CIM) para fungos										
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Ca	1,0	2,0	1,0	0,5	---	---	1,0	1,0	---	---
Cg	---	0,03	---	---	---	---	---	---	0,25	0,25
Ck	---	0,5	---	---	---	---	---	---	0,5	0,5
Cp	---	0,5	---	---	---	---	---	---	0,25	0,25
Ct	---	2,0	>1,0	---	---	---	---	---	2,0	2,0
Cn	---	0,03	>1,0	---	---	---	---	---	0,25	0,03

--- não testado

Fungos: *Ca*: *Candida albicans*, *Cg*: *Candida glabrata*, *Ck*: *Candida krusei*, *Cp*: *Candida parapsilosis*, *Ct*: *Candida tropicalis*, *Cn*: *Cryptococcus neoformans*

Origem botânica

A origem botânica da própolis de Mato Grosso exibiu o perfil polínico de 21 famílias e 38 gêneros (Tabela Complementar 1). A própolis P5 foi a única com pólen dominante de *Mimosa* (Fabaceae); seis própolis apresentaram pólen acessório (P1 a P4, P6 e P10); e três própolis tiveram ocorrência apenas de pólenes isolados (P7, P8 e P9). Os pólenes acessórios foram representados por sete perfis polínicos do Tipo Anacardiaceae, *Terminalia* sp. (Combretaceae), *Mimosa debilis* e *Mimosa pudica* (Fabaceae), *Guazua tomentosa* (Malvaceae), *Miconia prasina* (Melastomataceae) e tipo *Richardia* (Rubiaceae) (P6).

Os pólenes isolados foram compostos por 30 tipos polínicos, 13 deles ocorrem em uma única amostra de própolis, como os *Tachigali aurea*, *Mesosphaerum suaveolens* e Tipo Poaceae em P1. Na amostra P2, os pólenes únicos foram *Bidens gardneri*, *Cassia grandes* e *Sclerolobium aureum*, enquanto em P3 foi *Borreria densiflora*. Apenas na amostra P7 foram encontrados *Eupatorium* sp., *Hyptis* sp., *Aulomyrcia glabra* e *Myrcia* sp. Os pólenes que ocorrem apenas na amostra P8 foram *Piper* sp. e *Spiranthera odotissima*, enquanto *Genipa* sp. ocorreu apenas em P10. Nas demais própolis (P1, P4, P5, P6 e P9), os tipos polínicos foram comuns a uma ou mais amostras. Dentre as própolis que apresentaram atividade antimicrobiana, apenas as amostras P4 e

P9 tiveram a presença de pólenes isolados comuns às outras própolis, sem tipo polínico único. Assim, observa-se que estas origens botânicas podem estar relacionadas à atividade biológica dessas amostras.

DISCUSSÃO

A cor dos extratos de própolis de Mato Grosso teve influência da origem geográfica, em que se constatou que as cores vermelhas em Comodoro, assim como a cor verde-oliva em Reserva do Cabaçal. A própolis verde foi descrita em regiões e estados do Brasil (PARK; IKEGAKI; ALENCAR, 2000), como a região Sudeste com própolis verde em Minas Gerais (Lavras), na região Centro-Oeste em Goiás (Pirenópolis) e no Nordeste, na Bahia e Sergipe (ANDRADE *et al.*, 2017; RIGHI; NEGRI; SALATINO, 2013), bem como a própolis verde de Mato Grosso com a própolis de Reserva do Cabaçal (P6).

Assim como a própolis verde, a própolis vermelha tem registro em outras regiões e estados brasileiros (PARK; IKEGAKI; ALENCAR, 2000), nos estados da Bahia, Sergipe e Pernambuco (ANDRADE *et al.*, 2017; RIGHI; NEGRI; SALATINO, 2013; SANTIAGO *et al.*, 2022). A própolis de Mato Grosso de Comodoro P4 tem características que se assemelha ao seu extrato etanólico de outras própolis vermelhas do Brasil. Além disso, a atividade antioxidante dessas própolis foi confirmada em dois métodos (DPPH e FRAP, IC₅₀ menor que 35 µg/mL). A própolis vermelha de Alagoas possui atividade antioxidante de IC₅₀% 4,8 a 87 µg/mL para DPPH, que é semelhante às própolis vermelhas de Mato Grosso, que se encontram dentro deste intervalo (SANTIAGO *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2020).

As própolis P4 e P6 possuem atividades antimicrobiana e antioxidante superior as outras própolis de Mato Grosso devido aos maiores conteúdos de fenólicos e flavonoides, confirmando a hipótese 2. A própolis do Reserva do Cabaçal (P6) com a coloração do extrato etanólico verde-oliva possui inibição moderada para bactérias gram-positivas (*S. aureus* e *S. mutans*). A própolis de Mato Grosso (P6) teve inibição para a bactéria gram-negativa (*H. pylori*, CIM 1000 µg/mL), que normalmente é superior ao de bactérias gram-positivas. Para a atividade *H. pylori*, o CIM foi de 100 a 1000 µg/mL para própolis da Bulgária,

Itália e Brasil (BANKOVA; CASTRO; MARCUCCI, 2000; BOYANOVA et al, 2005; NOSTRO et al, 2005).

A inibição de bactérias pode se diferenciar entre as própolis verdes do Sudeste do Brasil quanto à concentração inibitória mínima de CIM 159 a 700 µg/mL (BITTENCOURT *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2021; MACHADO *et al.*, 2016). A variação da concentração inibitória mínima das própolis verdes do Sudeste está diretamente associada à atividade antioxidante, com IC₅₀% de 28,7 a 4300 µg/mL. A menor CIM da própolis verde corresponde à menor concentração eficiente para atividade antioxidante. A atividade antioxidante da própolis verde de Reserva do Cabaçal (P6, IC₅₀%=9,37 µg/mL) foi aproximadamente três vezes menor que concentração da própolis do Sudeste do Brasil.

A própolis vermelha de outras regiões do Brasil tem inibição sobre bactérias gram-positivas como *S. aureus* e *S. epidermidis* (CIM 64 a 390 µg/mL) e gram-negativa como *E. coli* (CIM 46 a 5000 µg/mL), *P. auginosa* (256 a 5000 µg/mL) (BARRETO *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2022; DAS NEVES *et al.*, 2016; MACHADO *et al.*, 2016; MOREIRA *et al.*, 2022; RUFATTO *et al.*, 2018). Logo, a própolis P4 de Mato Grosso possui inibição sobre diversas bactérias gram-positivas como *S. aureus* e *S. epidermidis* (CIM 2000 a 4000 µg/mL) e gram-negativas como *S. aureus*, *E. coli*, *H. pylori*, *K. pneumoniae* e *P. auginosa* (1000 µg/mL). Isso torna a própolis vermelha de Mato Grosso (P4) assemelhada às outras própolis vermelhas do Brasil.

As própolis P1, P2 e P8 de coloração avermelhada semelhante a própolis P4 de Comodoro, possuem à atividade antioxidante (IC₅₀ 3,56 a 77,33 µg/mL) estar dentro do intervalo da própolis vermelha de Alagoas (MARCUCI *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020). As três outras própolis vermelhas de Mato Grosso (P1, P2 e P8) apresentaram CIM 4000 µg/mL para *S. aureus* e 2000 µg/mL para *E. coli*, o que indica menor atividade antibacteriana do que a própolis P4. Tais própolis apresentam atividade sobre bactérias gram-negativas estarem dentro dos intervalos da própolis vermelha brasileira, como *E. coli* (CIM 46 a 5000 µg/mL) e *P. auginosa* (256 a 5000 µg/mL) (BARRETO *et al.*, 2022; DAS NEVES *et al.*, 2016; RUFATTO *et al.*, 2018).

A própolis vermelha foi registrada em quatro estados do Brasil, Alagoas, Bahia, Sergipe e Pernambuco, o que indica que a influência local (apiário) é determinante na cor do extrato e não a região geográfica. Provavelmente, a interação da genética da abelha da colônia e a flora apícola, no entorno do apiário, é a explicação da cor e das características biológicas do extrato de própolis vermelha.

A própolis P5 de Reserva do Cabaçal da coloração amarelada apresenta atividade anti *Helicobacter pylori* (CIM 1,0 mg/ mL) em comparação à própolis amarela de Mato Grosso do Sul, que não teve atividade para bactérias gram negativas e positivas (CIM>12 mg/ mL) (MACHADO *et al.*, 2016). Apenas algumas própolis são capazes de inibir *H. pylori*, dentre elas os CIM de 0,1 a 1,0 mg/mL (BANKOTA *et al.*, 2000; BOYANOVA *et al.*, 2005; NOSTRO *et al.*, 2005), o que reforça o potencial da própolis P5 de Reserva do Cabaçal, que também possui atividade antioxidante para DPPH e FRAP.

A própolis P3 vermelha de Mato Grosso possui atividade antioxidante pelo método do DPPH (IC₅₀ menor que 43 µg/mL), entretanto não foi testada sobre os microrganismos incluídos neste estudo, embora obtenha atividade antifúngica para *C. albicans* (CIM 1,0 mg/mL), o que não é comum para as própolis.

A própolis P7 (Nova Lacerda), de coloração marrom-avermelhada, apresenta atividade antibacteriana para *E. coli* com CIM 2000 µg/mL, que está incluso no intervalo da própolis marrom da Bahia de 800 a 18.000 µg/mL (SILVA *et al.*, 2022; DEVEQUI-NUNES *et al.*, 2018). Entretanto, a própolis P7 teve a atividade para *S. aureus* (4000 µg/mL) inferior às própolis da Bahia com CIM de 100 a 800 µg/mL, o que indica menor atividade antibacteriana (COELHO *et al.*, 2017; DEVEQUI-NUNES *et al.*, 2018). A atividade antioxidante de P7 foi de 3 a 87 µg/mL, que está dentro do intervalo de 30 a 159 µg/mL, como descrito para própolis marrom da Bahia, Paraná, Santa Catarina e Minas Gerais.

As própolis marrom-escuro e preta (P9 e P10) de Mato Grosso possuem atividade antibacteriana para *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. fecalis* e *E. coli* (CIM maior que 12.800 µg/mL) (MACHADO *et al.*, 2016) é inferior quando comparada à própolis de Mato Grosso (CIM 1000 a 4000 µg/mL), que difere da própolis marrom-escuro e preta de Mato Grosso.

O conteúdo de fenólicos e flavonoides não foi devido a origem botânica, refutando a hipótese 3.

Evidencia-se que a própolis marrom-escuro e preta de Mato Grosso apresenta atividade antioxidante e antibacteriana para gram-positivas e negativas, bem como as própolis pretas registradas no Brasil em Picos (Piauí) e Pirenópolis (Goiás) (RIGHI; NEGRI; SALATINO, 2013).

CONCLUSÃO

Quatro própolis de Mato Grosso não atendem físico-químico estabelecidos na legislação brasileira para qualidade.

Os extratos de própolis avermelhada e verde estão presente na mesorregião Sudoeste e o extrato preto na mesorregião Centro-Sul de Mato Grosso o que confirma influência na sua origem geográfica.

As nove própolis de Mato Grosso possuem atividades antimicrobiana e antioxidante devido ao conteúdo de fenólicos e flavonoides, com distinta origem botânica.

REFERÊNCIAS

- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Determinação da atividade antioxidante por DPPH - NBR16956-5 DE 07/2021.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Determinação de flavonoides totais - NBR16956-4 DE 03/2021.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Determinação de fenóis totais em própolis *in natura* - NBR16956-6 DE 07/2021.
- ANDRADE, J. K. S. *et al.* Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129–138, 1 nov. 2017.
- ANJUM, S. I. *et al.* Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p. 1695–1703, 1 nov. 2019.
- BANKOVA, V.; CASTRO, S. L. de; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, V. 31, p. 3-15, 2000.
- BARRETO, G. DE A. *et al.* Evaluation of the Potential of Brazilian Red Propolis Extracts: An Analysis of the Chemical Composition and Biological Properties. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 12, n. 22, 1 nov. 2022.

BARTH, O. M.; DUTRA, LIMEIRA. M. V.; JUSTO, R. L. Análise polínica de algumas amostras de própolis do Brasil meridional. **Ciência Rural**, v. 29, n. 4, p. 663–667, 1999.

BASTOS, E. M. A. F. *et al.* Indicadores físico-químicos e atividade antibacteriana de própolis marrom frente à *Escherichia coli*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1255–1259, 2011.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 15–27, 1 jan. 1999.

BERRETTA, A. A. *et al.* Functional Properties of Brazilian Propolis: From Chemical Composition Until the Market. Em: **Superfood and Functional Food**, p. 56–97, 2017.

BESERRA, F. P. *et al.* Artepillin C as an outstanding phenolic compound of Brazilian green propolis for disease treatment: A review on pharmacological aspects. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 5, p. 2274–2286, 1 maio 2021.

BITTENCOURT, M. L. F. *et al.* Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: Use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. **Food Research International**, v. 76, p. 449–457, 1 out. 2015.

BOUCHELAGHEM, S. Propolis characterization and antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 4, p. 1936–1946, 1 abr. 2022.

BOYANOVA, Lyudmila *et al.* Activity of Bulgarian propolis against 94 *Helicobacter pylori* strains in vitro by agar-well diffusion, agar dilution and disc diffusion methods. **Journal of medical microbiology**, v. 54, n. 5, p. 481–483, 2005.

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

CABRAL, I. S. R. *et al.* Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, p. 1523–1527, 2009.

CARLI, C. de *et al.* Production of chitosan-based biodegradable active films using bio-waste enriched with polyphenol propolis extract envisaging food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 213, p. 486–497, 31 jul. 2022.

CLSI. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, 3rd ed. Approved standard M27-A3**. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.

COELHO, J. *et al.* Composición fenólica y evaluación de la actividad antioxidante de los propóleos del sureste y sur de Brasil. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 1, p. 21–31, 1 jan. 2017.

DAS NEVES, M. V. M. *et al.* Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against *Candida* sp. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 159–166, jan. 2016.

DEVEQUI-NUNES, D. *et al.* Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. **Plos One**, v. 13, n. 12, 1 dez. 2018.

DIAS, L. G.; PEREIRA, A. P.; ESTEVINHO, L. M. Comparative study of different Portuguese samples of propolis: Pollinic, sensorial, physicochemical, microbiological characterization and antibacterial activity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 12, p. 4246–4253, 1 dez. 2012.

DUDOIT, A. *et al.* Antifungal activity of brazilian red propolis extract and isolation of bioactive fractions by thin-layer chromatography-bioautography. **Food Chemistry**, v. 327, 15 out. 2020.

ERDTMAN, G. **The acetolysis method**. A Revised Description. *Svensk Botanisk Tidskrift*, v. 54, p. 561–564, 1960.

FAIRCHILD, M. D. Visual and photographic assessment of wine color. **Color Research and Application**, v. 48, n. 1, p. 21–31, 1 jan. 2023.

FERNANDES, F. H. *et al.* Evaluation of mutagenic and antimicrobial properties of brown propolis essential oil from the Brazilian Cerrado biome. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 1482–1488, 31 dez. 2015.

FRANZ, G. M. *et al.* Análise polínica e compostos fenólicos de mel e própolis do Pantanal, Mato Grosso, Brasil. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 13–25, 22 maio 2018.

FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; DA LUZ, C. F. P. Própolis marrom da vertente atlântica do Estado do Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação palinológica. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 2, p. 343–354, 2010.

GNIEWOSZ, M. *et al.* Characterization and Antifungal Activity of Pullulan Edible Films Enriched with Propolis Extract for Active Packaging. **Foods**, v. 11, n. 15, 1 ago. 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Município de Cáceres, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/caceres/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Município de Conquista D'oeste, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/conquista-doeste/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Município de Reserva do Cabaçal, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível

em:<<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/reserva-do-cabacal/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Município de Reserva do Cabaçal, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em:<<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/reserva-do-cabacal/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Município de Nova Santa Helena, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em:<<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/nova-santa-helena/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Município de Colíder, Mato Grosso, Brasil. 2021. Disponível em<<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/colider/panorama>>. Acesso: 20 de maio de 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Número de estabelecimentos agropecuários com apicultura e Venda de produtos.** 2017. Disponível em:< <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6935>>. Acesso: 22 de agosto de 2022.

IBRAHIM, M. E. E. D.; ALQURASHI, R. M. Anti-fungal and antioxidant properties of propolis (bee glue) extracts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 361, p. 109463, 16 jan. 2022.

KARKI, R. *et al.* Chungtaejeon, a korean fermented tea, scavenges oxidation and inhibits cytokine induced proliferation and migration of human aortic smooth muscle cells. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 66, p. 27-33, 2011.

LOUREIRO, E. M. *et al.* Produção de própolis de apis mellifera em apiários comerciais de dois municípios de mato grosso na amazônia meridional. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 1–11, 2013.

LOUREIRO, E. M.; GALBIATI, C. Evaluation of the influence of seasonality and landscape on the physicochemical characteristics of propolis. **Food Scienc and Technology**, v. 33, n. 4, p. 790–795, 2013.

LU, C. *et al.* Flower color classification and correlation between color space values with pigments in potted multiflora chrysanthemum. **Scientia Horticulturae**, v. 283, p. 110082, 1 jun. 2021.

MACHADO, C. S. *et al.* Comparative Study of Chemical Composition and Biological Activity of Yellow, Green, Brown, and Red Brazilian Propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1–11, 2016.

MARCUCCI, M. C. *et al.* Espectroscopia uv-vis e reação com o radical DPPH para a detecção de flavonoides e determinação do potencial antioxidante de extratos de própolis. **Revista Eletrônica de Ciências Exatas**, v. 1, n. 1, p. 1–9, 2020.

MARCUCCI, Maria Cristina *et al.* Espectroscopia UV-Vis e reação com o radical DPPH para a detecção de flavonoides e determinação do potencial antioxidante de extratos de própolis. **Revista Eletrônica de Ciências Exatas**, v. 1, n. 1, 2020.

- MARTINI, D. *et al.* Sazonalidade sobre o potencial antifúngico da própolis verde coletada em Campo Grande - MS. **Ciencia Rural**, v. 47, n. 3, 2017.
- MOREIRA, R. S. DA S. *et al.* Preparation and evaluation of red propolis and nystatin cyclodextrin inclusion complexes against oral microbiome opportunistic microorganisms. **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 42, 2022.
- MOYO, M. *et al.* Phenolic composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Sclerocarya birrea* and *Harpephyllum caffrum* (Anacardiaceae) extracts. **Food Chemistry**, v. 123, n. 1, p. 69–76, 1 nov. 2010.
- MUNSELL. **About Munsell Color**. 2023. Disponível em: <<https://munsell.com/about-munsell-color/>>. Acesso: fevereiro 2022.
- NOSTRO, A. *et al.* Effects of combining extracts (from propolis or Zingiber officinale) with clarithromycin on *Helicobacter pylori*. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 20, n. 3, p. 187-190, 2006.
- OLIVEIRA, M. S. *et al.* Chemical composition of volatile compounds in *Apis mellifera* propolis from the northeast region of Pará State, Brazil. **Molecules**, v. 26, n. 11, 1 jun. 2021.
- PARK, Y. KUN.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M. Classificação das própolis brasileira a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Apacame**, v. 58, p. 1–8, 2000.
- RAMÓN-SIERRA, J. *et al.* Partial characterization of ethanolic extract of *Melipona beecheii* propolis and in vitro evaluation of its antifungal activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 3, p. 319–324, 1 maio 2019.
- RAO, M. N. A. Nitric Oxide Scavenging by Curcuminoids. **Journal of Pharmacy. and Pharmacology**, v. 49, p. 105–107, 1997.
- RIGHI, A. A.; NEGRI, G.; SALATINO, A. Comparative chemistry of propolis from eight Brazilian localities. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–14, 2013.
- RUFATTO, L. C. *et al.* Brazilian red propolis: Chemical composition and antibacterial activity determined using bioguided fractionation. **Microbiological Research**, v. 214, p. 74–82, 1 set. 2018.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. **Food Science Technology**, v. 8, n. 3, p. 121–137, 2002.
- SANTIAGO, M. B. *et al.* Brazilian Red Propolis Presents Promising Anti-*H. pylori* Activity in In Vitro and In Vivo Assays with the Ability to Modulate the Immune Response. **Molecules**, v. 27, n. 21, 1 nov. 2022.
- SILVA, E. C. da; GALBIATI, C. Própolis: alternativa de tratamento como fitoterápico nas unidades básicas de saúde da família (UBSF). **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 73–87, 22 maio 2018.

SILVA SANTOS, F. A. *et al.* Physical and chemical attributes of soils of Paraguay River margins. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 8, n. 1, p. 239–249, 30 abr. 2013.

SILVA, V. da C. *et al.* Development of a Polymeric Membrane Impregnated with Poly-Lactic Acid (PLA) Nanoparticles Loaded with Red Propolis (RP). **Molecules**, v. 27, n. 20, 1 out. 2022.

SILVA, V. C. *et al.* New Insights for Red Propolis of Alagoas—Chemical Constituents, Topical Membrane Formulations and Their Physicochemical and Biological Properties. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5811, 9 dez. 2020.

SOUZA, H. R. DE *et al.* Espectro polínico da própolis de *Scaptotrigona* aff. *postica* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) em Barra do Corda, MA, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 3, p. 307–316, set. 2015.

TRUSHEVA, B. *et al.* Bioactive constituents of Brazilian red propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, n. 2, p. 249–254, jun. 2006.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme a nossa análise, verificamos que algumas própolis de Mato Grosso apresentam características físico-químicas, o que confere qualidade para o consumo humano, por estarem de acordo com os critérios estabelecidos pela legislação brasileira. As própolis das regiões de Mato Grosso, Centro-Sul e Sudoeste, e de quadro municípios (Comodoro, Reserva do Cabaçal, Conquista D'Oeste e Cáceres) têm atividade antioxidante e antimicrobiana.

Dentre a atividade antimicrobiana, destaca-se a atividade antifúngica sobre as espécies *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Cryptococcus neoforms* que se constata nas própolis de três municípios de Mato Grosso (Comodoro, Reserva do Cabaçal e Conquista D'Oeste). A atividade antifúngica pode estar associada à origem botânica, devido à presença de espécies botânicas isoladas e específicas em cada uma dessas própolis. A espécie *Borreria densiflora* é específica da própolis de Comodoro. A própolis de Reserva do Cabaçal tem a espécie botânica *Richardia* sp. incomum, enquanto *Hyptis* sp., *Myrcia* sp. e *Eupatorium* sp. estão presentes apenas na própolis de Conquista D'Oeste. Essas espécies botânicas têm atividade antifúngica comprovada pela literatura, o que pode explicar a atividade antifúngica associada à origem botânica, que é a fonte dos compostos bioativos.

A própolis com qualidade para o consumo humano, atividade antifúngica, antibacteriana e antioxidante, proporciona visibilidade da atividade farmacológica a este produto natural produzido pelas abelhas, que utilizam a flora para sua produção, além dos seus benefícios à saúde. A própolis de Mato Grosso destacada neste estudo pode contribuir com a mitigação de problemas de saúde ligados a infecções bacteriana e/ ou fúngica, devido ao seu potencial antimicrobiano e antioxidante. Isso está vinculado ao objetivo do desenvolvimento sustentável ODS 3: Saúde e Bem-estar, uma vez que a própolis auxilia em infecções e poderá promover vida saudável e bem-estar, requisitos fundamentais para a saúde humana. As atividades biológicas da própolis e o seu uso em Práticas Integrativas e Complementares no SUS contribuem para a meta de saúde e bem-estar.

As cores da própolis de Mato Grosso são verde, vermelha, marrom e preta, que se diferenciam pela origem geográfica e o bioma em que a própolis está inserida. Dessa forma, demonstra-se que no estado de Mato Grosso há diversidade de cores, as quais estão presentes em outras regiões do Brasil. A própolis verde-oliva está presente em Mato Grosso em função da origem geográfica (Reserva do Cabaçal) e domínio dos biomas Cerrado e Amazônia. A própolis vermelha foi identificada em Mato Grosso nos domínios dos biomas Cerrado e Amazônia.

A diversidade de cores da própolis de Mato Grosso, com algumas fontes botânicas da flora específicas, demonstra o papel ecológico das abelhas no uso sustentável dos ecossistemas terrestres como as florestas, o qual é um dos objetivos específicos do ODS 15 Vida terrestre. A polinização realizada por *Apis mellifera* e o uso sustentável da flora apícola atendem ao ODS 15.

As própolis de Mato Grosso foram caracterizadas em diferentes cores e origens botânicas, isso inclui a região Centro-Oeste do Brasil, em especial Mato Grosso, com própolis de qualidade, ampliando a distribuição geográfica para o avanço científico da atividade farmacológica da própolis de *Apis mellifera*. A atividade biológica da própolis teve influência do local do apiário neste estudo, o que sugere que o apicultor que deseja a coleta de própolis com atividade biológica deve selecionar o local do apiário, para o qual a avaliação da própolis é fundamental. A apicultura contribui com renda de pequenos produtores, a produção de própolis de qualidade poderá ser mais um produto apícola vendido além do mel. Essas atividades atendem ao ODS 2: Fome Zero e Agricultura Sustentável, que tem como meta a produtividade agrícola e prática agrícola resiliente, que pode ser atingida com a polinização das abelhas por meio da apicultura.

APÊNDICES

Apêndice A. Tabela Complementar 1. Perfil polínico da própolis de Mato Grosso devido a origem geográfica dos municípios de Cáceres, Comodoro, Conquista D'Oeste e Reserva do Cabaçal. Origem botânica dos pólenes organizados por família e gênero taxonômicos. Pólen acessório (PA) frequência de ocorrência 15 a 45% e pólen isolado (PI) frequência de ocorrência < 15%. *Numeração usada no 1º capítulo da dissertação.

Origem botânica		Origem geográfica da própolis Mato Grosso									
		Comodoro		Reserva do Cabaçal		Conquista D'Oeste		Cáceres			
		1*	2*	3*	4*	5*	6*				
Família	Gênero	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Anacardiaceae	<i>Astronium urundeuva</i> (M. Allemão) Engl.								PI	PI	PI
	Tipo Anacardiaceae R. Br.		PI							PI	PA
	<i>Cocos</i> sp. L.								PI		
Asteraceae	<i>Bidens gardneri</i> Baker		PI								
	<i>Eupatorium</i> sp. L.							PI			
Burseraceae	<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) Marchand										
Cannabaceae	<i>Trema micrantha</i> (L.) Blume	PI								PI	
	<i>Terminalia</i> sp. L.					PI	PA				

Continuação da Tabela complementa 1

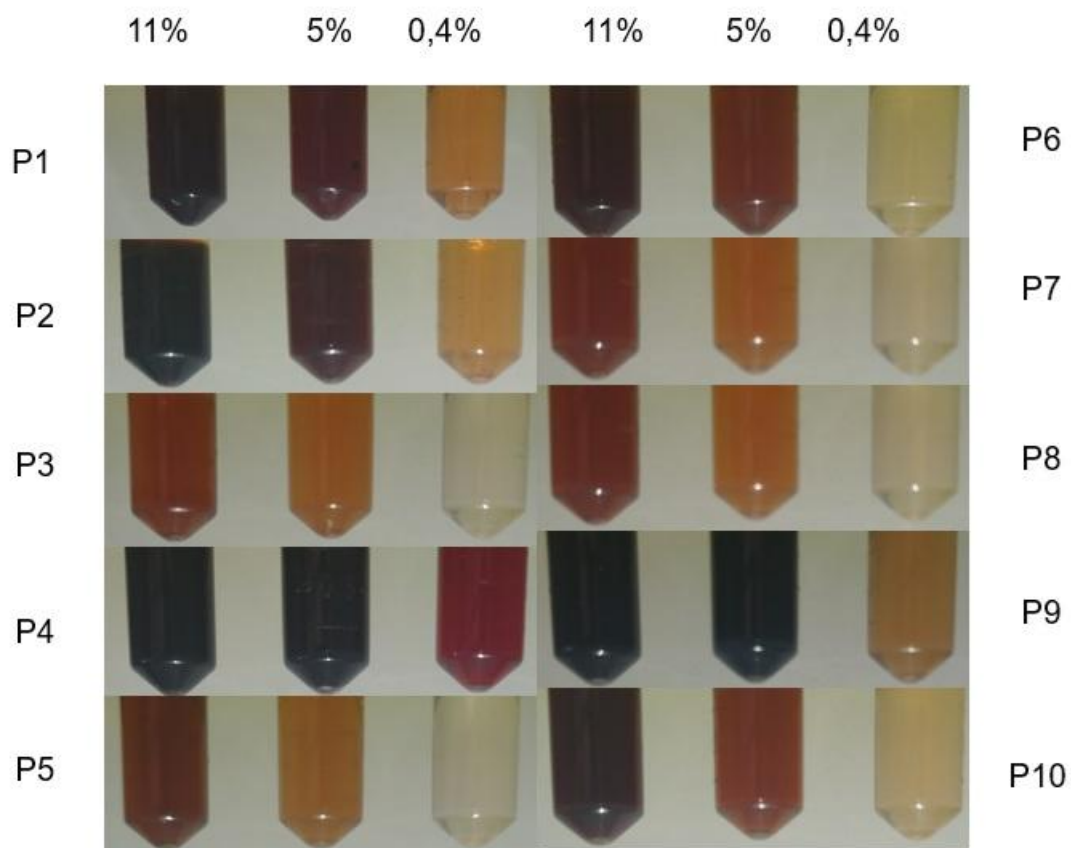
		Origem geográfica da própolis Mato Grosso										
		Comodoro				Reserva do Cabaçal	Conquista D'Oeste		Cáceres			
Origem botânica				1*	2*	3*		4*			5*	6*
Família	Gênero	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	
Lamiaceae	<i>Mesosphaerum</i>	PI										
	<i>suaveolens</i> (L.) Kuntze											
	<i>Hyptis</i> sp. Jacq.							PI				
Malvaceae	<i>Guazuma tomentosa</i> Kunth	PA	PI	PI					PI			
Melastomataceae	<i>Miconia prasina</i> (Sw.) DC.	PI	PA	PA	PI			PI			PI	
Myrtaceae	<i>Aulomyrcia glabra</i> O. Berg							PI				
	<i>Myrcia</i> DC.							PI				
Passifloraceae	<i>Turnera ulmifolia</i> L.	PI		PI								
Piperaceae	<i>Piper</i> sp. L.								PI			
Poaceae	<i>Brachiaria decumbens</i>	PI	PI									
	Stapf											
	Tipo Poaceae Barnhart	PI										
Rubiaceae	<i>Alibertia verrucosa</i> S. Moore	PI	PI									

Continuação da Tabela complementa 1

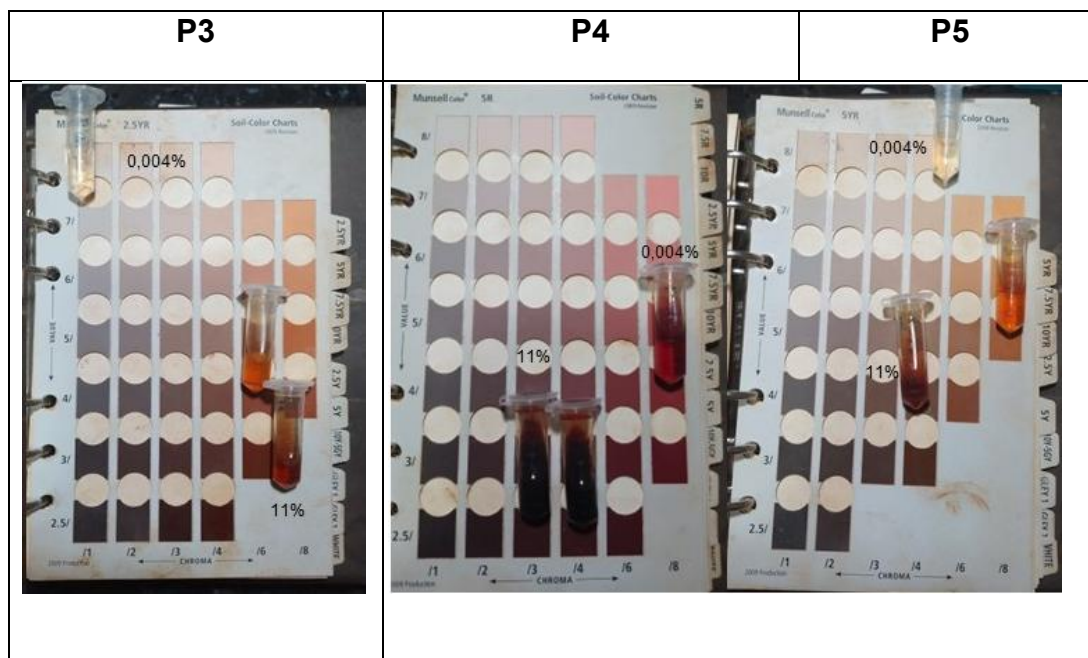
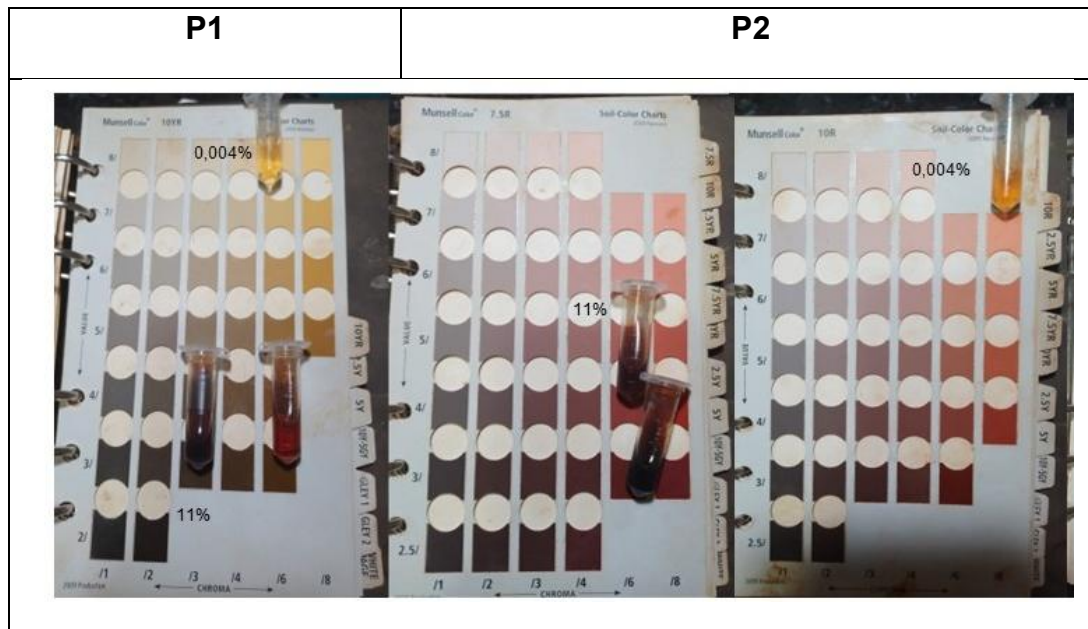
Origem botânica		Origem geográfica da própolis Mato Grosso									
		Comodoro		Reserva do Cabaçal		Conquista D'Oeste		Cáceres			
		1*	2*	3*	4*	5*	6*				
Família	Gênero	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Rubiaceae	<i>Borreria densiflora</i> DC.			PI							
	Tipo <i>Ferdinandea</i> Pohl			PI	PI						
	<i>Genipa</i> sp. L.										PI
	Tipo <i>Richardia</i> sp. L.						PA				
	<i>Borreria verticillata</i> (L.) G. Mey.	PI	PI	PI							
	<i>Spiranthera odotissima</i> A. St.-Hil.								PI		
Simaroubaceae	<i>Simarouba versicolor</i> A. St.-Hil.		PI	PI							
Solanaceae	<i>Solanum</i> sp. L.								PI		
Urticaceae	<i>Cecropia</i> sp. Loefl.	PI							PI		PA
Vochysiaceae	<i>Vochysia</i> spp. A. St.-Hil.		PI	PI	PI						

*Numeração do artigo 1

Apêndice C. Cor dos extratos de própolis de Mato Grosso, nas concentrações de 11%, 5% e 0,4% dos municípios de Comodoro (P1 a P4), Reserva do Cabaçal (P5 e P6), Conquista D'Oeste (P7 e P8) e Cáceres (P9 e P10).



Apêndice D1. Extratos de própolis de Mato Grosso comparadas na carta de Munsell, nas concentrações de 11%, 5% e 0,4% dos municípios de Comodoro (P1 a P4), Reserva do Cabaçal (P5 e P6), Conquista D'Oeste (P7).



Apêndice D2. Extratos de própolis de Mato Grosso comparadas na carta de Munsell, nas concentrações de 11%, 5% e 0,4% dos municípios Conquista D'Oeste (P8) e Cáceres (P9 e P10).

P8	P9	P10
		