



# COINTER PDVAgro 2023

VIII CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Edição Presencial Recife (PE) | 29, 30 de nov a 1 de dez

ISSN: 2526-7701 | PREFIXO DOI: 10.31692/2526-7701

## DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS E FLAVANÓIDES E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DOIS EXTRATOS DE PRÓPOLIS PRODUZIDOS NA MICRORREGIÃO DE GARANHUNS

## DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES Y FLAVANOIDES Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO PRODUCIDOS EN LA MICRORREGIÓN DE GARANHUNS

## DETERMINATION OF THE CONTENT OF PHENOLS AND FLAVANOIDS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF TWO PROPOLIS EXTRACTS PRODUCED IN THE GARANHUNS MICROREGION

Apresentação: Pôster

Sayonara Germano Barreto<sup>1</sup>; Júlio César da Silva Vieira<sup>2</sup>; Pedro Gregório Vieira Aquino<sup>3</sup>; Marcelo de Oliveira Milfont<sup>4</sup>; Elizabete Rodrigues da Silva<sup>5</sup>

### INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância complexa obtida pelas abelhas, especialmente *Apis mellifera*, a partir das secreções balsâmicas de flores, brotos, folhas, cascas, ramos ou exsudados disponíveis na flora local (BOUCHELACHEM, 2022). A composição da própolis varia de acordo com a origem geográfica e botânica, estação do ano, genética das abelhas e fatores ambientais. (SURAN et al., 2021). Além disso, o tempo de coleta também é um fator que afeta sua composição química (FIORDALISI; HONORATO; KUHNEN, 2019).

Vários estudos têm relatado uma diversidade de atividades biológicas da própolis, tais como: propriedade cicatrizante, antibacteriana, antiviral, antiprotzoária, antifúngica, anti-inflamatória, anticancerígena, antioxidante, antitumoral e antimutagênica. (MENDONÇA et al., 2015; SILVA et al., 2021; SURAN et al., 2021; FARIDA et al., 2022).

Os compostos químicos farmacologicamente ativos mais conhecidos na própolis são os flavonóides, ácido fenólico, terpenos, xantonas, propolonas e gutiferonas (MENDONÇA et al., 2015). Segundo Santos et al. (2019) a presença de compostos fenólicos, como flavonoides, terpenóides e ácidos aromáticos, justificam as propriedades antimicrobiana, antioxidante, anti-

<sup>1</sup> Mestranda em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção, UFAPE, [barretosayonara@gmail.com](mailto:barretosayonara@gmail.com)

<sup>2</sup> Mestrando em Sanidade e Reprodução de animais de Produção, UFAPE, [julio\\_cesar\\_mv@yahoo.com](mailto:julio_cesar_mv@yahoo.com)

<sup>3</sup> Professor dos cursos Medicina Veterinária, Agronomia e Zootecnia, UFAPE, [pedro.aquino@ufape.edu.br](mailto:pedro.aquino@ufape.edu.br)

<sup>4</sup> Professor professor dos Zootecnia e Agronomia, Instituição, [marcelo.milfont@ufape.edu.br](mailto:marcelo.milfont@ufape.edu.br)

<sup>5</sup> Professor(a) do curso de Medicina Veterinária, UFAPE, [elizabete.rodrigues@ufape.edu.br](mailto:elizabete.rodrigues@ufape.edu.br)

inflamatória e antitumoral da própolis. Neste mesmo sentido, Sousa et al. (2019) demonstram uma correlação entre o perfil de substâncias fenólicas e as propriedades biológicas da própolis, fazendo com que a determinação qualitativa e quantitativa desses componentes seja usada como parâmetro de qualidade para a caracterização desse produto.

Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi correlacionar o teor de fenóis e flavanóides com a capacidade bacteriostática e bactericida de dois extratos de própolis produzidos na Microrregião de Garanhuns frente à cepas de *Staphylococcus aureus*.

## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A resistência antimicrobiana (RAM) tem sido um tema cada vez mais discutido e o uso indiscriminado de drogas antimicrobianas no ambiente de fazenda e hospitalar são apontados como os principais responsáveis pelo surgimento de bactérias multirresistentes (REPIK et al., 2022). Na área da medicina veterinária, particularmente de animais de produção, uma das enfermidades infecciosas cujos agentes etiológicos poderão apresentar multirresistência antimicrobiana é a mastite (SANTOS et al., 2019). Segundo Lopes et al. (2022), mais de 130 espécies bacterianas já foram associadas à mastite bovina, porém poucas são responsáveis por 80% dos casos da doença. *Staphylococcus aureus* é reconhecido como o principal agente patogênico causador dessa enfermidade.

Diante da problemática que é a RAM, a busca por fontes alternativas ao uso de drogas convencionais tem sido cada vez mais comum, dentre as quais, pode-se mencionar os compostos naturais de plantas e derivados (SANTOS et al., 2019; SOUSA et al., 2019). Dentre estes compostos, a própolis tem sido cada vez mais estudada por desempenhar importante papel no combate aos microrganismos resistentes (SANTOS et al., 2019).

## METODOLOGIA

As amostras de própolis foram obtidas do apiário pertencente a Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, situado na Microrregião de Garanhuns. Ao todo foram adquiridas nove amostras (designadas de 01 a 09) de três caixas distintas, coletadas com intervalo de 2 meses.

O extrato hidroalcolólico de própolis foi obtido de acordo com a metodologia de



Mendonça et al. (2015) com adaptações. Foi utilizado álcool 70% na proporção de 1:10. Após a solubilização da amostra em álcool, a substância foi filtrada e reduzida em rota evaporador. As amostras foram liofilizadas e armazenadas no freezer a -20°C.

Para a determinação do conteúdo fenólico total presentes nos extratos, foram realizados testes quantitativos pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (SLINKARD; SINGLETON et al., 1977) com modificações, utilizando ácido gálico como composto fenólico padrão. A absorbância foi estimada a 760nm. Os resultados foram expressos em microgramas equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de extrato. Já os flavonóides totais foram estimados pelo método de Woisky e Salatino (1998), com adaptações, utilizando quercetina como flavonoide padrão. A absorbância foi medida a 420 nm. Os resultados foram expressos em microgramas equivalentes de quercetina (EQ)/g de extrato.

A atividade antimicrobiana foi avaliada através da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). Para os testes foram utilizadas três cepas de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), sendo elas: *S. aureus* ATCC 25923, *S. Aureus* resistente a meticilina (MRSA) e uma cepa de campo isolada de mastite bovina.

A partir dos extratos foram preparadas soluções estoque. A amostra foi solubilizado em dimetilsufóxido (DMSO) a 5%, obtendo-se a concentração inicial de 4mg/mL. Após isso, as amostras foram filtradas em filtro de seringa de 0,22µm e armazenadas sob refrigeração até o uso.

Para a determinação da CIM foi utilizada a técnica da microdiluição de acordo com o CLSI (2018) com as adaptações sugeridas por Santos et al. (2019). Dessa forma, placas estéreis de microcultivo de 96 poços defundo em “U”, foram preparados com caldo Mueller-Hinton, extrato bruto da própolis (concentração variando de 1000µg/mL a 7,81 µg/mL) e inóculo bacteriano na concentração final de  $5 \times 10^5$  UFC/mL. Em todas as placas foram preparados, poços com caldo Mueller-Hinton, extrato e sem o inóculo, Mueller-Hinton com inóculo, poços somente com caldo Mueller-Hinton, DMSO com inóculo e clorafenicol com inóculo, representando controles de qualidade da técnica. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas e a CIM determinada como a menor concentração do extrato da própolis que inibiu o crescimento bacteriano aparente.

Para a determinação da CBM, alíquotas de 10µL de cada poço do experimento acima



Descrito, foram distribuídos na superfície de placas de ágar Tryptic Soy Agar (TSA agar, Kasvi, Brasil). As placas serão incubadas a 37°C por 24 horas e a CBM determinada como a menor concentração do extrato da própolis onde não houve crescimento bacteriano (SILVA et al., 2021). O teste foi realizado em triplicata e o experimento em duplicata.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram escolhidas, para fins de comparação, a amostra três, com maior quantidade de fenóis e flavonoides, e a amostra nove, com menor quantidade desses compostos (Tabela 1), e por apresentarem melhor desvio padrão no teste, 4,17 e 1,24 respectivamente.

**Tabela 01:** Médias dos teores totais de fenóis e flavonoides de extratos hidroalcolicos da própolis produzida na Microrregião de Garanhuns, Brasil.

Amostras	Fenóis (mgEAG/mL)	Falvonóides mgEQ/mL
	Média ± DP	Média ± DP
01	519,631 ± 7,01	284,855 ± 1,88
02	588,953 ± 5,79	815,646 ± 6,37
03	783,643 ± 4,17	475,616 ± 1,55
04	326,268 ± 2,86	412,663 ± 0,91
05	380,546 ± 3,06	395,996 ± 2,18
06	614,027 ± 2,56	342,373 ± 0,64
07	448,982 ± 5,04	267,162 ± 0,77
08	280,988 ± 7,75	224,167 ± 5,73
09	338,510 ± 3,27	316,014 ± 1,24

Fonte: Própria (2023).

A amostra três demonstrou melhor resultado no teste CIM, com concentração de 250 µg/mL para as três cepas testadas e CBM de 250 µg/mL para as cepas 128P e MRSA 86, e para a ATCC 25923 concentração de 500 µg/mL. Já a amostra 09 não apresentou CIM, devido a isso, o teste de CBM não foi realizado (Tabela 2).

**Tabela 02:** CIM e CBM das amostras 03 e 09 dos extratos hidroalcolicos da própolis produzida na Microrregião de Garanhuns, Brasil.

Amostras	CIM (µg/mL)			CBM (µg/mL)		
	128P	MRSA <sup>a</sup>	ATCC 25923	128P	MRSA	ATCC 25923
<b>03</b>	250	250	250	250	250	500
<b>09</b>	1000	100	1000	-	-	-

<sup>a</sup>Staphylococcus aureus resistente a meticilina

Fonte: Própria (2023).



Xavier e colaboradores (2023) avaliando a atividade antimicrobiana do extrato etanólico própolis vermelha brasileira contra *Escherichia coli* (*E. Coli*) e *Klebsiella pneumoniae*, relataram CIM de 2,05 e 0,13 mg/mL e CBM de 15,63 e 3,91 mg/mL, para esses microrganismos respectivamente. Por outro lado, Santos et al. (2019), avaliando a CBM de extratos etanólicos de própolis contra *Staphylococcus* spp. isolados de mastite caprina, observaram que as concentrações de 6250, 3125 e 1562,5µg/mL foram capazes de levar a morte desses agentes.

El-Guendouz et al. (2018), comparando a atividade antimicrobiana de extratos de própolis marroquina avaliada através de MIC e CBM com os teores de fenóis totais, observaram que a amostra que apresentou melhor atividade, ou seja, menores CIM e CBM foi a que também demonstrou a maior concentração de fenóis totais.

As diferenças observadas nos resultados discutidos anteriormente são atribuídas por alguns autores, a vasta diversidade de composição química, em contra partida, um mesmo extrato pode ter um espectro de ação distintos para microrganismos diferentes (EL-GUENDOZ et al., 2018; CRUZ et a., 2019)

## CONCLUSÕES

Assim, é possível concluir que, o extrato da própolis produzida na Microrregião de Garanhuns que apresentou maior teores de fenóis e flavonoides foi o que demonstrou maior atividade antimicrobiana. É evidente que a própolis possui atividade antimicrobiana, contudo, faz-se necessário este de citotoxicidade e testes *in vivo* para sua utilização como uma alternativa terapêutica para doenças infecciosas.

## REFERÊNCIAS

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. **CLSI Approved Standard M100-S15**. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, 2018.

CRUZ A. I. C. et al. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS VERDE FRENTE A BACTÉRIAS RESISTENTES A ANTIMICROBIANOS COMERCIAIS. **Qualidade de produtos de origem animal 2** [recurso eletrônico] / Organizador Flávio Ferreira Silva. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, v. 2, p. 90-98, 2019.

EL-GUENDOZ, S. et al. Moroccan Propolis: a natural antioxidant, antibacterial, and antibiofilm against staphylococcus aureus with no induction of resistance after continuous



exposure. **Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine**, [S.L.], v. 2018, p. 1-19, 12 nov. 2018. Hindawi Limited.

FARIDA, S. et al. In-vitro antioxidant, in-vivo anti-inflammatory, and acute toxicity study of Indonesian propolis capsule from *Tetragonula sapiens*. **Saudi Journal Of Biological Sciences**, [S.L.], v. 29, n. 4, p. 2489-2500, abr. 2022. Elsevier BV.

FIORDALISI, S. A. L. De; HONORATO, L. A.; KUHNEN, S. Seasonal variation of propolis from southern Brazil. **Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science**, [S.L.], v. 56, n. 1, p. 1-11, 5 jul. 2019. Universidade de Sao Paulo, Agencia USP de Gestao da Informacao Academica (AGUIA).

LOPES, T. S. et al. Species identification and antimicrobial susceptibility profile of bacteria associated with cow mastitis in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 42, p.1-8, 2022. FapUNIFESP (SciELO).

MENDONÇA, I. C. G. De et al. Brazilian red propolis: phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. *Bmc Complementary And Alternative Medicine*, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-12, 14 out. 2015. **Springer Science and Business Media LLC**.

REPIK, C. et al. A resistência antimicrobiana na produção animal: Alerta no contexto da saúde única. **Pubvet**, 16(04), 2022.

SANTOS, H. C. Dos et al. Atividade antimicrobiana de frações do extrato de própolis frente à *Staphylococcus* spp. isolados de mastite caprina. **Pesquisa Veterinária Brasileira** [online]. 2019, v. 39, n. 12.

SILVA, T. S. et al. Green and Red Brazilian Propolis: antimicrobial potential and anti virulence against atcc and clinically isolated multidrug resistant bacteria. *Chemistry & Biodiversity*, [S.L.], v. 18, n. 8, p. 1-18, 22 jun. 2021. Wiley.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. **American Journal Enology and Viticulture**, v. 28, p. 49-55, 1977.

SURAN, Jelena et al. Propolis Extract and Its Bioactive Compounds—From Traditional to Modern Extraction Technologies. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 10, p. 2930, 14 maio 2021. MDPI AG.

WOISKY, R.G., SALATINO A. 1998. Analysis os propolis: some parameters ond prodecore for chemical fuality control. **J. Apic. Res.** 37(2):99-105.

XAVIER, A. de L. et al. Atividade antibacteriana do extrato etanólico da própolis vermelha brasileira contra bactérias produtoras de  $\beta$ -lactamase e carbapenemase de espectro estendido multidroga-resistentes. **Scientia Plena**, 19(4), 2023.

