

Avaliação do efeito de formulações comerciais de própolis verde (*Apis mellifera*) sobre *Saccharomyces cerevisiae*

Damáris Capistrano Cruz

Luanne Eugênia Nunes

RESUMO

A própolis, resina natural com diversas propriedades biológicas, foi amplamente utilizada ao longo da história e segue sendo usada até hoje, inclusive de forma comercial. O presente estudo objetivou caracterizar a composição fitoquímica de três produtos comerciais à base de extratos de própolis verde e avaliar o efeito citotóxico dessas formulações frente a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A metodologia incluiu a caracterização fitoquímica de três produtos comerciais, sendo dois extratos hidroalcoólicos (P1 e P2) e um aquoso (P3) por testes qualitativos de colorimetria e precipitação e por análise espectrofotométrica na região UV-Vis. Também foi analisado o efeito citotóxico dessas formulações frente a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, modelo eucarioto amplamente utilizado em estudos de citotoxicidade. A avaliação foi realizada por meio da taxa de mortalidade celular da levedura ao longo de 120 minutos de exposição. Adicionalmente, foi observada a presença de floculação e avaliado o crescimento macroscópico de colônias ao longo do tempo de exposição. A triagem fitoquímica revelou a presença de compostos secundários como flavonoides, taninos, cumarinas, saponinas alcaloides e triterpenos, com variações na composição entre as amostras. Os testes demonstraram um aumento da mortalidade proporcional ao tempo de exposição, sendo a amostra P2, um extrato hidroalcoólico, a que apresentou maior efeito deletério frente às células. Os produtos avaliados também promoveram floculação e redução no crescimento das colônias. Desse modo, os extratos avaliados apresentam potencial tóxico frente a *S. cerevisiae*, e esses efeitos variam de acordo com a composição química de cada formulação. Os resultados contribuem para a compreensão biológica da própolis e fornecem informações importantes para estudos futuros na área de produtos naturais e sobre a segurança dos pacientes no uso dessas formulações.

Palavras-chave: Própolis; Citotoxicidade; Fitoquímica; Modelo eucarioto; Compostos fenólicos.

INTRODUÇÃO

Os registros históricos mais antigos sobre a utilização de produtos naturais remontam à Mesopotâmia e ao Egito antigo. Dentre esses produtos, a própolis destaca-se por seu uso secular e multifacetado (Liberato; Moraes, 2016). Além de mesopotâmicos e egípcios, outros povos também são conhecidos por utilizarem a própolis, principalmente por suas propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes, como os gregos e romanos. Hipócrates já indicava seu uso para tratamento de feridas, e registros históricos mostram que o produto também era usado em guerras para tratar soldados feridos, nos séculos XIX e XX. Com o passar do tempo, seu uso tradicional permaneceu (Oliveira, 2023).

A própolis bruta, em sua composição básica, apresenta aproximadamente 50% de resinas vegetais, 30% de cera de abelha, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% de

impurezas, como madeira e terra (Menezes, 2022a). O termo "própolis" tem origem grega e significa "defesa da cidade", refletindo sua função protetora na colmeia. As abelhas utilizam amplamente esse composto para vedar rachaduras, fortalecer as estruturas dos favos e reparar danos internos, garantindo assim a integridade e a segurança do ambiente interno da colmeia (Bankova *et al.*, 2019).

A própolis de *Apis mellifera* já teve mais de 500 compostos químicos identificados, incluindo polifenóis, terpenos, aldeídos, álcoois aromáticos, ácidos graxos e esteroides. Esses compostos são metabólitos secundários das plantas e representam componentes orgânicos fundamentais encontrados na própolis (Franchini *et al.*, 2024). A composição química do composto é influenciada principalmente pelas características fitogeográficas da região onde a colmeia está localizada, além de sofrer variações sazonais e diferenças relacionadas às raças de abelhas presentes em uma mesma localidade. Essa diversidade química resulta em variações nas propriedades farmacológicas da própolis (Menezes, 2022b).

Somado a isso, estudos realizados por Kara *et al.*, (2020), demonstraram que diferentes tipos de solventes no momento da extração da própolis, e diferentes componentes na formulação dos extratos vendidos comercialmente também podem afetar seus compostos químicos e consequentemente sua atividade biológica. Água, clorofórmio, dimetilsulfóxido, metanol, éter, acetona, diclorometano, acetato de etila e propilenoglicol são exemplos de solventes amplamente utilizados para preparação dos extratos (Irigotti *et al.*, 2021).

Com o aumento na procura e comercialização de produtos naturais, surgiu a necessidade da criação de normativas que assegurem a qualidade e a segurança desses produtos no mercado. No Brasil, foram elaboradas a Resolução nº 48/2004 e, posteriormente, a RDC nº 26/2014, que estabelecem diretrizes e requisitos para a produção, comercialização e rotulagem de fitoterápicos e apiterápicos (ANVISA, 2004; ANVISA, 2014). Ambas as resoluções destacam a importância da caracterização da composição química dos produtos comerciais, especialmente considerando que as formulações podem apresentar variações em sua eficácia e segurança.

Portanto, os testes de citotoxicidade são importantes ferramentas para avaliar a biocompatibilidade de produtos e identificar possíveis efeitos tóxicos (Li *et al.*, 2015). Nesse contexto, alguns estudos mostram que compostos presentes nos extratos de própolis podem ter ação citotóxica, dependendo da sua concentração e composição, sendo capazes até de causar danos e morte celular, como já observado em testes realizados

utilizando células de microcrustáceos (Santos *et al.*, 2017; Martinez, 2011). Analisar esse potencial nos extratos comerciais é essencial tanto para garantir a segurança do uso quanto para explorar possíveis aplicações terapêuticas, além de fornecer subsídios para a padronização e regulamentação de produtos naturais no mercado.

Sob essa ótica, metodologias que utilizam modelos de micro-organismos simples, como a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, vêm sendo amplamente empregadas em testes preliminares de citotoxicidade que necessitam de modelos biológicos eucariotos. Isso se deve, principalmente, à sua facilidade de manipulação, baixo custo, fácil obtenção e ao fato de ser uma célula eucariótica, o que lhe confere grande semelhança estrutural com organismos mais complexos, como os mamíferos. Além disso, seu genoma é bem conhecido, o que torna a levedura uma das mais escolhidas em estudos básicos que envolvem comparações com células humanas (Rodrigues, 2019; Mori, 2024).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo caracterizar diferentes produtos a base de extratos de própolis verde, comercializados no Brasil, quanto a composição fitoquímica e os efeitos citotóxicos observados frente à *Saccharomyces cerevisiae*. Considerando que esses produtos variam quanto à formulação, tipo de solvente e concentração dos compostos bioativos, pretende-se verificar como essas diferenças influenciam o potencial citotóxico observado.

METODOLOGIA

Caracterização das amostras

Foram adquiridos três produtos de própolis vendidas em farmácias comerciais. Cada frasco foi identificado e classificado conforme as informações fornecidas nos rótulos, incluindo o tipo de solvente, composição e laboratório fabricante (Quadro 1).

Quadro 1 – Caracterização dos produtos comerciais utilizados no estudo.

Amostra	Tipo de solvente	Componentes da formulação	Concentração do extrato (p/v)	Conteúdo
P1	Hidroalcoólico	Álcool neutro, água e própolis	12%	30 mL
P2	Hidroalcoólico	Própolis verde, álcool de cereais grau alimentício e água purificada	25%	30 mL
P3	Aquoso	Água e extrato de própolis verde	Não informado	250 mL

Screening fitoquímico dos produtos de própolis

Para a realização dos testes fitoquímicos dos extratos, as amostras foram submetidas a testes de identificação dos metabólitos secundários, seguindo metodologias adaptadas de Radi e Terrones (2007) e Harborne (1984), conforme descrito a seguir:

Pesquisa de flavonoides

Reação de alcalinização (NaOH 5%)

Para realização deste teste, 0,5 mL de cada produto foram transferidos para tubos de ensaio distintos (um extrato em cada tubo). Em seguida, foram adicionadas 2 gotas de NaOH 5% a cada tubo.

Reação de solubilidade alcalina (NaOH 10%)

Para realização deste teste, 1 mL de cada extrato foi transferido para tubos de ensaio distintos. Em seguida, 0,5 mL de NaOH a 10% foi adicionado a cada tubo.

Reação com complexação metálica

Para esse teste, uma alíquota de 100 µL dos extratos foram aplicadas em três regiões distintas de um papel filtro. Em seguida, gotas de cloreto de alumínio foram adicionadas nos mesmos locais onde os extratos foram aplicados. Posteriormente, o papel filtro foi levado para visualização de fluorescência sob luz ultravioleta (395 nm).

Reação de Taubouk

Inicialmente, 3 mL de cada extrato foram colocados em três béqueres distintos e levados à secura em banho-maria. Posteriormente, os resíduos foram umedecidos com 1 mL de acetona, e alguns cristais de ácido bórico e ácido salicílico foram adicionados. Em seguida, os béqueres foram novamente levados à secura em banho-maria, e os resíduos restantes foram dissolvidos em éter etílico. Por fim, as amostras foram submetidas à visualização sob luz ultravioleta.

Reação de Shinoda

Para realização deste teste, 2 mL de cada extrato foram transferidos para tubos de ensaio. Em seguida, foram adicionados pequenos fragmentos de magnésio metálico, seguidos de 1 mL de HCl concentrado. Dessa forma, foram observadas as possíveis colorações desenvolvidas.

Reação de Pew

Para essa reação, 3 mL de cada produto foram transferidos para tubos de ensaio e secados em banho-maria. Em seguida, foram adicionados 3 mL de metanol, zinco metálico e 3 gotas de ácido clorídrico. Ao final da reação, a presença de flavonoides é confirmada com a formação de um resíduo de coloração vermelha.

Pesquisa de taninos

Reação de precipitação com gelatina

Para essa reação, 2 mL de cada extrato foram adicionados a tubos de ensaio e, em seguida, 3 gotas de gelatina a 2,5% foram acrescentadas a cada tubo. Assim, aguardou-se a formação de precipitados para confirmar a presença de taninos.

Reação com cloreto férrico

Os extratos que apresentaram precipitação no teste anterior, foram avaliados pela reação com cloreto férrico. Para esse teste, 2,0 mL de cada extrato foram transferidos para tubos de ensaio, ao qual foram adicionados 8 mL de água destilada. Após homogeneizar a mistura, duas gotas de solução de cloreto férrico a 10% foram acrescentadas a cada tubo, seguida de nova agitação, em seguida, a mudança de cor foi observada. A formação da cor azul foi interpretada como indicativo da presença de taninos hidrolisáveis, enquanto a cor verde sugeriu taninos do tipo condensado.

Índice afrossimétrico

O princípio deste teste é avaliar a presença de saponinas através da formação de uma espuma persistente por um período médio de 30 minutos. Para este ensaio, 5,0 mL de cada extrato vegetal foram transferidos para tubos de ensaio, aos quais adicionaram-se 5,0 mL de água destilada aquecida até 100°C. A mistura foi agitada de forma vigorosa e, em seguida, deixada em repouso por um período de 30 minutos.

Cumarinas

Neste experimento, foram transferidos 2 mL de cada extrato vegetal para placas de Petri. Em seguida, adicionaram-se 2 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) a cada amostra. As placas foram agitadas durante 5 minutos, e, após esse intervalo de tempo, analisou-se a emissão de fluorescência nas amostras.

Alcaloides

Foram utilizados 2,0 mL de cada extrato vegetal, aos quais foram adicionados 2,0 mL de uma solução de ácido clorídrico a 10%. As amostras foram aquecidas, e, após resfriamento, foram adicionadas 3 gotas do Reativo de Dragendorff. Após esse procedimento, verificou-se a formação de um precipitado de cor laranja.

Reação de Liebermann - Burchard

Neste ensaio, adicionaram-se 2,0 mL de cada extrato vegetal em placas de Petri até a obtenção de um resíduo concentrado. Em seguida, adicionaram-se 3,0 mL de clorofórmio, 2,0 mL de anidrido acético e 5 gotas de H₂SO₄ em cada uma das placas. Após esse procedimento, foi observado o aparecimento da coloração verde/azul ou vermelho, sendo os metabólitos classificados como triterpênicos ou esteroides, respectivamente.

Caracterização do padrão químico dos produtos por espectrofotometria UV-Vis

Neste ensaio, os extratos secos foram diluídos diretamente nos tubos de ensaio, formando soluções etanólicas para a amostra P1 e metanólicas para a amostra P2, nas concentrações de 0,9875 mg/mL (P1) e 0,0417 mg/mL (P2). Inicialmente, o equipamento foi zerado utilizando o diluente correspondente a cada amostra como branco. As análises foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis Bel Photonics UV M-51, com varredura entre 200 e 400 nm e registros a cada 5 nm. Os dados foram organizados em uma planilha no Excel, para elaboração do gráfico de regressão linear conforme descrito por Marcucci *et al.* (2020).

Avaliação da citotoxicidade

Condições de cultivo

Para promover o crescimento celular, as leveduras foram cultivadas em frascos de Erlenmeyer contendo 0,1 g de levedura liofilizada, 2 g de glicose e 18 mL de água destilada estéril. A mistura foi homogeneizada utilizando agitador tipo vortex. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL dos extratos de própolis, separadamente, cada um em um tubo diferente, todos na concentração de 50 µg/mL. As soluções dos extratos foram previamente preparadas a partir dos extratos secos, que foram devidamente pesados e diluídos em água destilada até atingir a concentração desejada para o ensaio. Para o frasco de controle positivo, 2 mL de etanol (96° GL) foram adicionados e para o de controle de crescimento foram adicionados 2 mL de solução salina estéril (0.85%). Os tubos foram

incubados a 30 °C, sob agitação de 250 rpm, por diferentes tempos (30, 60, 90 e 120 minutos), seguindo metodologia adaptada de Sarabia *et al.* (2019). Após os períodos de incubação, foram coletadas alíquotas para análise do crescimento das colônias, verificação de floculação e avaliação da taxa de mortalidade celular.

Avaliação da mortalidade

Para análise da taxa de mortalidade, foram utilizadas células já cultivadas previamente. Foram retiradas alíquotas de 10 µL da amostra, que foram transferidas para Eppendorfs contendo 90 µL de azul de metileno. Após homogeneização, a mistura foi aplicada em câmara de Neubauer e as células foram observadas com auxílio de microscópio óptico, nas objetivas de 10x e 40x. As células coradas em azul pelo azul de metileno foram identificadas como mortas, enquanto as que permaneceram sem coloração foram consideradas vivas. Isso permitiu a contagem e identificação das células vivas, mortas e com tendência de floculação, seguindo metodologia adaptada de Lee *et al.* (1981).

Crescimento da colônia

Para verificar o crescimento das colônias após a exposição aos extratos, foram utilizadas células previamente cultivadas. Placas de Petri contendo ágar Sabouraud foram inoculadas com 10 µL das alíquotas retiradas dos tubos incubados, considerando os diferentes tempos de exposição. As placas foram mantidas a 30 °C por 48 horas, até o surgimento das colônias. A avaliação do crescimento foi feita de forma visual e qualitativa, seguindo metodologia adaptada de Mueller *et al.* (2020).

Análise estatística

Os dados obtidos foram organizados no *Microsoft Excel* 16, e os gráficos foram construídos no *GraphPad Prism* (versão 10.4.2), sendo apresentados com valores de média acompanhados do desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A triagem fitoquímica dos três produtos comerciais de própolis permitiu que fossem identificados, de maneira preliminar, diferentes classes de metabólitos secundários, conforme descrito no Quadro 2. Os testes foram realizados por meio de reações qualitativas, visando a detecção da presença de flavonoides, taninos, saponinas, alcaloides, cumarinas e triterpenos.

Quadro 2 – *Screening* fitoquímico dos produtos à base de extratos da própolis verde

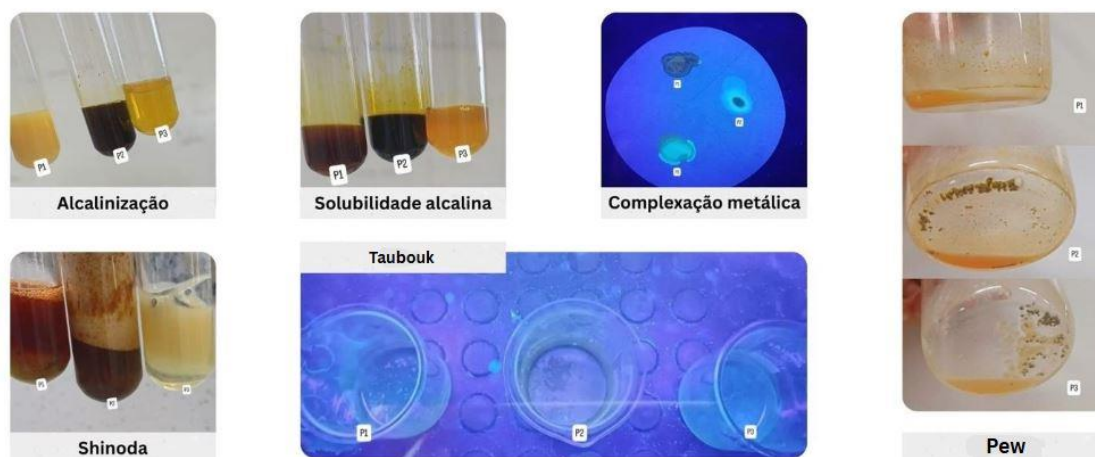
Reação	Conteúdo fitoquímico	P1	P2	P3
Alcalinização	Flavonoides	Amarelo	Amarelo escuro	Amarelo
Solubilidade alcalina	Flavonoides	pH básico	pH básico	pH básico
Complexação metálica	Flavonoides	+	+	+
Taubouk	Flavonoides	Fluorescente	Fluorescente	Fluorescente
Shinoda	Flavonoides	Vermelho	Vermelho	Amarelo
Pew	Flavonoides	+	+	+
Precipitação com proteína	Taninos	+	-	-
Reação com cloreto férrico	Taninos	Verde	Verde	Verde
Índice afrosimétrico	Saponinas	Espuma (+++)	Espuma (+++)	Espuma (-)
Emissão de fluorescência	Cumarinas	+	+	++
Precipitação com Dragendorff	Alcaloides	+	+	-
Liebermann - Burchard	Esteróides/Triterpenos	Verde	Vermelho	-

(-) Reação Negativa (+) Reação Positiva

Fonte: Autoria própria (2025)

A partir das reações de alcalinização, solubilidade alcalina, complexação metálica, Tabouk, Shinoda e Pew, foi possível identificar a presença de flavonoides nas três amostras testadas. A positividade foi confirmada pela mudança de coloração característica, tons de amarelo e vermelho, e pela fluorescência observada sob luz UV (395 nm), como pode ser observado na figura 1.

Figura 1 - Registros fotográficos das reações fitoquímicas realizadas para detecção de flavonoides nos extratos P1, P2 e P3.

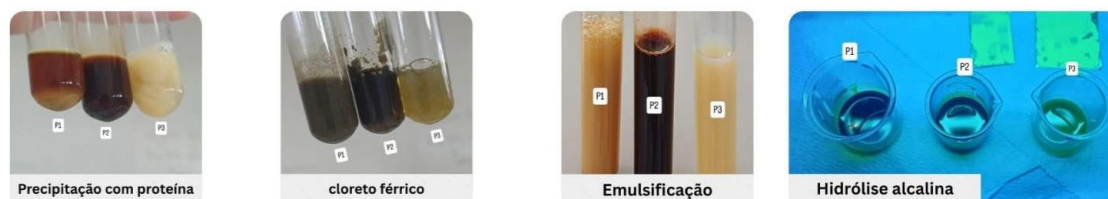


Fonte: Autoria própria (2025)

A presença desses compostos nos produtos corrobora os achados de Nunes *et al.* (2012), que também identificaram flavonoides totais em amostras semelhantes. No extrato aquoso (P3), a reação de Shinoda indicou positividade por meio da coloração amarela, o que pode estar relacionado aos tipos de flavonoides presentes. Segundo Zuanazzi e Montanha (2007) e Costa (1996), flavonoides como chalconas, isoflavonas e auronas são responsáveis por essa coloração, sugerindo que esses compostos também podem ser extraídos por solventes aquosos, ainda que em menor diversidade ou intensidade.

Assim como observado nos estudos de Nogueira (2017) e Oliveira e Momesso (2019), a presença de taninos foi detectada nos extratos de própolis verde analisados. No entanto, apenas a amostra P1 reagiu também na prova de precipitação com proteínas (Figura 2). Isso pode estar ligado à especificidade de cada método, já que, segundo Harborne (1988) e Martin e Martin (1983), o teste com cloreto férrico é menos seletivo e pode indicar, na amostra avaliada, a presença de fenólicos em geral. A precipitação, por sua vez, depende da capacidade dos taninos de formar complexos com proteínas, sendo mais eficaz na detecção de moléculas com maior peso molecular, como pode ser o caso da amostra P1.

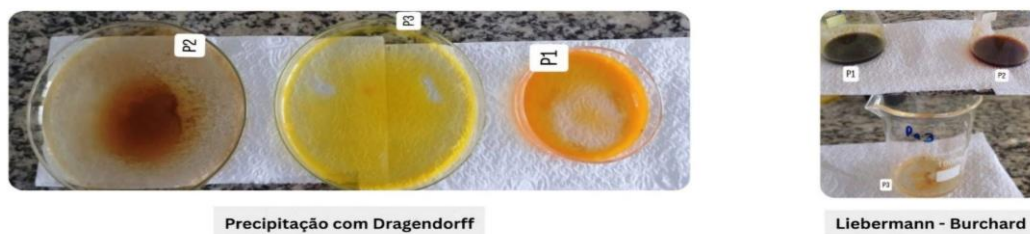
Figura 2 - Registros fotográficos das reações fitoquímicas realizadas para detecção de taninos, saponinas e cumarinas nos extratos P1, P2 e P3.



Fonte: Autoria própria (2025)

As cumarinas foram encontradas em todos os extratos testados, evidenciando a presença do composto e sua contribuição para a atividade antioxidante e terapêutica da própolis (Figura 2). Os resultados foram semelhantes aos de Salgueiro e Castro (2016), que também identificaram esses metabólitos em seus extratos. Quanto à presença de saponinas, nota-se que novamente a amostra P3 não detectou a presença dos metabólitos. Nesse contexto, sua identificação apenas nos extratos hidroalcoólicos pode estar relacionada à sua natureza anfifílica, que favorece a extração em solventes com polaridade intermediária, como o etanol. Essas moléculas apresentam uma parte apolar (sapogenina) e cadeias de açúcares hidrossolúveis, o que dificulta sua extração em água pura (Oakenfull, 1981; Price; Johnson; Fenwick, 1987).

Figura 3 - Registros fotográficos das reações fitoquímicas realizadas para detecção de alcaloides e esteroides/triterpenos nos extratos P1, P2 e P3.



Fonte: Autoria própria (2025)

Como observado (Figura 3), de modo semelhante, a ausência de alcaloides no extrato aquoso pode estar relacionada à baixa solubilidade desses compostos em água e à tendência de precipitação em meios neutros. Estudos anteriores com extratos obtidos a partir de solventes etanólicos, hidroetanólicos e aquosos na extração de alcaloides, obtiveram resultados que demonstraram a presença desses compostos em todos os extratos que continham álcool (etanol), mas não no extrato aquoso (Aguiar *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2021).

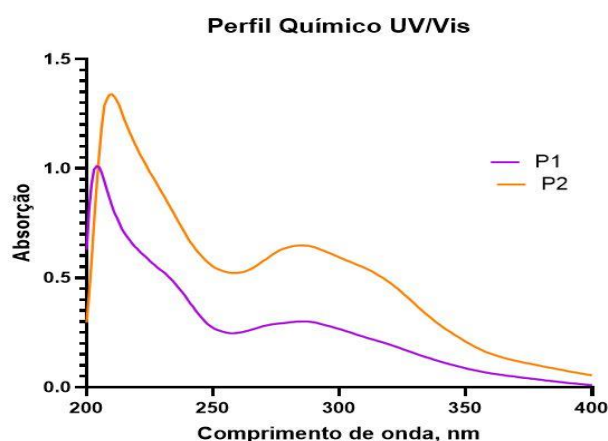
Já com relação aos triterpenos, nota-se que eles foram detectados apenas na amostra P1 (Figura 3). Isso pode ter ocorrido tanto em função da possível diferença na

origem botânica da matéria-prima coletada pelas abelhas, o que impacta diretamente o perfil fitoquímico do produto, quanto pela baixa solubilidade desses compostos em água, o que justificaria sua ausência no extrato aquoso (P3) (Bachórik & Urban, 2021; Salatino *et al.*, 2021).

Partindo da ótica de que, em comparação aos outros extratos, o extrato aquoso apresentou uma menor complexidade fitoquímica - o que pode impactar diretamente em uma menor atividade biológica e terapêutica -, as análises espectrofotométricas na região do ultravioleta-visível (UV/VIS) e os testes de citotoxicidade foram realizados apenas nos extratos hidroalcóolicos, P1 e P2.

O espectro obtido (Figura 4) mostra que ambas as amostras apresentaram picos de absorção principalmente nas faixas de 200 - 250 nm e 250 - 350 nm, o que, segundo Sousa *et al.*, (2019), indica a presença de compostos fenólicos, como flavonoides e derivados de ácidos cinâmicos, conhecidos por absorverem nessas regiões do espectro.

Figura 4 - Perfil químico dos produtos P1 e P2 por espectrofotometria UV-Vis.

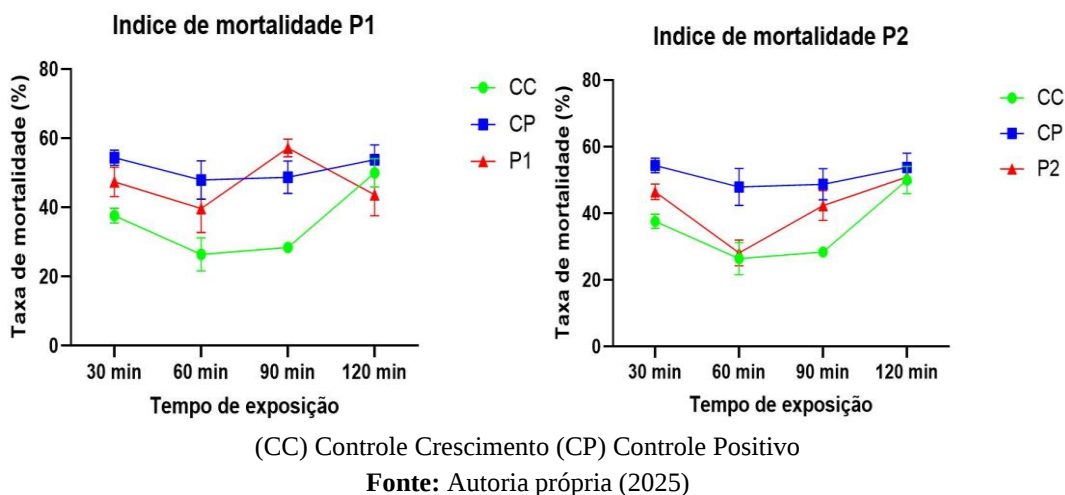


Fonte: Autoria própria (2025)

A curva do extrato P2 apresentou maior absorção nesses comprimentos de onda em comparação com a outra amostra, sugerindo uma maior concentração dessas substâncias. Essa diferença pode estar relacionada a diversos fatores, como o processo de extração, o solvente utilizado ou a origem da matéria-prima, conforme descrito por Scatolini (2017) e Teixeira e Amorim (2024). A semelhança entre os espectros aponta para a presença de grupos funcionais comuns entre os dois extratos de própolis, ainda que em diferentes concentrações, o que pode influenciar diretamente seus níveis de atividade biológica, como será evidenciado nos testes posteriores.

A avaliação da citotoxicidade dos produtos a base de extratos de própolis verde sobre *Saccharomyces cerevisiae* revelou diferenças de intensidade em suas taxas de mortalidade na concentração em que foram avaliados (Figura 5).

Figura 5- Avaliação da citotoxicidade dos produtos (P1 e P2) frente a *S. cerevisiae*.



Analisando o gráfico do índice de mortalidade (Figura 5), observa-se que ambas as amostras apresentaram potencial citotóxico inferior ao controle positivo, com aumento gradual ao longo do tempo, especialmente para a amostra P2, cuja taxa de mortalidade seguiu crescendo até os 120 minutos de exposição. No entanto, a amostra P1 apresentou um comportamento atípico em tempos específicos (90 e 120 minutos), com um pico abrupto de mortalidade seguido por uma queda brusca, resultando em valores inferiores até mesmo aos do controle negativo (controle de crescimento).

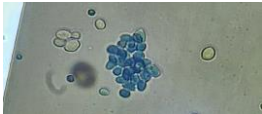
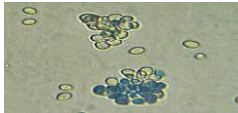
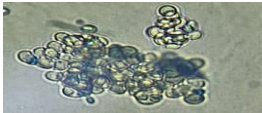
Como a literatura não descreve justificativas biológicas plausíveis para esse tipo de oscilação em um intervalo tão curto, sugere-se que o comportamento seja resultado de algum erro analítico, como falhas na contagem celular, problemas na homogeneização da amostra ou mesmo durante a manipulação das amostras para preenchimento da câmara de Neubauer.

Com relação à presença de floculação, as amostras também demonstraram potencial citotóxico no experimento. A partir do minuto 90, foi possível observar que ambos os extratos provocaram floculação em células vivas e mortas, embora com intensidades diferentes. A amostra P2, mais uma vez, apresentou uma resposta mais pronunciada, com maior número de células floculadas (Quadro 3).

Essa agregação está relacionada a um possível indicativo de citotoxicidade, pois sugere distúrbios na estabilidade fisiológica da levedura. De acordo com Ludwig *et al.*

(2001), esse fenômeno pode estar ligado à perda de viabilidade celular e à alteração da superfície das células, geralmente causadas por agentes externos. Ainda segundo o autor, a floculação compromete a capacidade de suspensão das células no meio, podendo levar ao seu sedimentação precoce e à interrupção dos processos metabólicos essenciais para sua sobrevivência. No presente estudo, a ocorrência da floculação em células vivas e mortas indica que os extratos atuaram de forma agressiva sobre a parede celular ou nas interações entre as células.

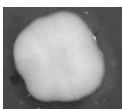
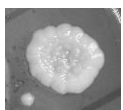
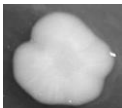
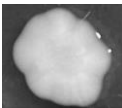
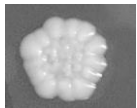
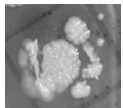
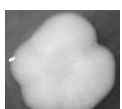
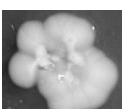
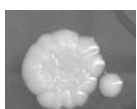
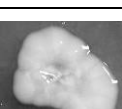
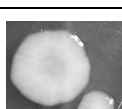
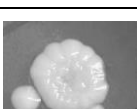
Quadro 3 – Registros de floculação das células vivas e mortas nas amostras P1 e P2

Tempo (minutos)	P1	P2
90		
120		

Fonte: Autoria própria (2025)

Já com relação ao crescimento das colônias após 48 horas de incubação, os extratos demonstraram uma atividade citotóxica semelhante entre si frente a morfologia macroscópica das colônias da levedura. Ao longo do tempo, observou-se uma redução no tamanho das colônias formadas, com crescimento progressivamente menor em comparação ao observado no início do experimento, no tempo de 30 minutos (Quadro 4).

Quadro 4 – Crescimento de colônias de *S. cerevisiae* após 48 horas de incubação.

Tempo (minutos)				
Concentração	30	60	90	120
Controle negativo				
Controle positivo				
P1				
P2				

Fonte: Autoria própria (2025)

Os resultados encontrados se alinham com estudos prévios que avaliaram o comportamento de *Saccharomyces cerevisiae* frente à exposição a extratos de própolis. De acordo com Yilmaz *et al.*, (2025), há relatos de alterações no proteoma mitocondrial, além da diminuição da oxidação intracelular, o que pode causar estresse oxidativo significativo nas células. Além disso, há evidências de que a exposição prolongada pode induzir apoptose, evoluindo para necrose em concentrações mais elevadas. Nesse contexto, considerando que a amostra P2 apresenta uma concentração maior de extrato de própolis (25%), é possível levantar a hipótese de que a intensidade do seu efeito citotóxico esteja diretamente relacionada a essa maior concentração, comportamento compatível com o aumento progressivo da mortalidade observado na amostra.

A citotoxicidade observada é provável de estar relacionada aos metabólitos secundários encontrados nos extratos, como flavonoides, cumarinas, saponinas, taninos, triterpenos e alcaloides. Segundo Arif (2011), esses compostos já demonstraram atividade antifúngica contra diferentes cepas, incluindo *S. cerevisiae*. O mesmo relata que seus mecanismos de ação são variados, podendo envolver a complexação com proteínas da parede celular, inibição de enzimas e até a ruptura da membrana das células, promovendo alterações estruturais que levam a morte celular. Dessa forma, a presença desses metabólitos pode justificar os efeitos vistos nos testes, como o aumento da mortalidade, a floculação e a inibição do crescimento das colônias.

Considerando que a amostra P2 apresentou maior potencial citotóxico que a P1, é possível associar esse resultado à maior concentração de metabólitos presentes no extrato. Isso é reforçado pela análise espectrofotométrica, que mostrou espectros de absorção mais intensos para P2, sugerindo uma quantidade maior desses compostos bioativos. Além disso, o próprio teor mais elevado de extrato de própolis na formulação pode ter potencializado esse efeito, o que ajuda a explicar a resposta mais acentuada observada nos testes de toxicidade.

É válido ressaltar que, embora as amostras comerciais dos extratos tenham apresentado potencial citotóxico no presente estudo, os testes foram realizados com concentrações diferentes das vendidas comercialmente, justamente para que seu potencial tóxico fosse evidenciado. No uso comercial, esses extratos são consumidos em doses enquadradas dentro dos limites recomendados por órgãos de segurança, como a ANVISA, que garante a segurança dos produtos para uso humano, respeitando os limites de concentração e o teor de metabólitos estabelecidos (Brasil, 2001; Brasil, 2011).

Dessa forma, os dados obtidos no estudo não representam risco direto ao consumidor, mas contribuem para elucidações científicas sobre as propriedades biológicas dos extratos de própolis e suas particularidades dependendo dos solventes utilizados na etapa de extração.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que os três produtos comerciais à base de extratos de própolis verde possuem composições fitoquímicas diferentes, sendo que dois deles apresentaram variações em seu potencial citotóxico frente à cepa de *Saccharomyces cerevisiae*. A amostra P2, com maior diversidade e concentração de metabólitos e maior teor de extrato de própolis, demonstrou um efeito mais citotóxico quando comparado a amostra P1, o que reforça a influência da concentração e do perfil químico na atividade biológica.

Diante do comportamento atípico apresentado pela P1 no gráfico de taxa de mortalidade, o estudo também destaca a importância de uma continuidade da avaliação, *in vitro*, do potencial citotóxico de produtos com perfil químico semelhante. Embora as concentrações utilizadas nos testes sejam diferentes daquelas aplicadas comercialmente, os dados obtidos contribuem para a compreensão das propriedades biológicas da própolis e de como elas podem variar de acordo com sua composição. Além disso, os achados

apresentados podem servir como base para futuros estudos com foco em padronização, segurança e caracterização de extratos naturais.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 14 maio 2014. Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf.

Acesso em: 08 fev. 2025.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC nº 48, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o regulamento técnico para medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 18 mar. 2004. Acesso em: 08 fev. 2025.

AGUIAR, A. T. E. *et al.* Diversidade química de cafeeiros na espécie *Coffea canephora*. **Bragantia**, v. 64, n. 4, p. 577-582, 2005. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/brag/a/8MStjLk44w8B4CBDhjg45FC/>. Acesso em: 12 maio 2025.

ARIF, Tasleem. Natural products: anti-fungal agents derived from plants. In: Opportunity, challenge and scope of natural products in medicinal chemistry. Kerala: **Research Signpost**, 2011. p. 283–311.

BACHOŘÍK, J.; URBAN, M. Biocatalysis in the chemistry of lupane triterpenoids.

Molecules, v. 26, n. 8, p. 2271, 14 abr. 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/molecules26082271>. Acesso em: 13 maio 2025.

BANKOVA, V. *et al.* Standard methods for *Apis mellifera* propolis research. **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 2, p. 1–49, 15 mar. 2019. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/00218839.2016.1222661?needAccess=true>. Acesso em: 08 fev. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N. 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geleia real, geleia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 jan. 2001. Seção 1, p. 18-22. Disponível em: <https://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2020/09/IN-MAPA-n%C2%BA-03-de-19-de-janeiro-de-2001.pdf>. Acesso em: 16 maio 2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 24, de 14 de junho de 2011. Dispõe sobre o registro de medicamentos específicos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 15 jun. 2011. Disponível em:

https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/rdc0024_14_06_2011.pdf. Acesso em: 16 maio 2025.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**: v. III. 5. ed. Portugal: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.

COSTA, Nádia Barbosa da. *et al.* Obtenção do perfil químico de extratos das folhas do cajueiro (*Anacardium occidentale*) a partir de diferentes solventes. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17473>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/17473/15635>. Acesso em: 13 maio 2025.

FRANCHIN, M. *et al.* Food-grade delivery systems of Brazilian propolis from *Apis mellifera*: from chemical composition to bioactivities in vivo. **Food Chemistry**, v. 432, p. 137175, 30 jan. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814623017934>. Acesso em: 08 fev. 2025.

HARBORNE, J. B. **Livro didático de métodos fitoquímicos**: um guia para técnicas modernas de análise de plantas. 5. ed. Londres: Chapman and Hall Ltd, 1984.

HARBORNE, J. B. **Livro didático de métodos fitoquímicos**: um guia para técnicas modernas de análise de plantas. 3. ed. Londres: Chapman & Hall Ltd, 1998.

IRIGOITI, Y. *et al.* The use of propolis as a functional food ingredient: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 115, p. 297–306, 1 set. 2021. Disponível em: <https://sci-hub.se/10.1016/j.tifs.2021.06.041>. Acesso em: 10 fev. 2025.

KARA, Y.; CAN, Z.; KOLAYLI, S. Comparative study of some commercial propolis extract with new prepared ethanolic propolis extract. **Bee Studies - Apiculture Research Institute**, v. 12, n. 2, p. 27–30, 31 dez. 2020. Disponível em: <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/1270739>. Acesso em: 10 fev. 2025.

LEE, S. S.; ROBINSON, F. M.; WANG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. **Biotechnology and Bioengineering Symposium**, v. 11, p. 641–649, 1981. Disponível em: <https://www.osti.gov/biblio/5354410>. Acesso em: 05 maio 2025.

LI, W. *et al.* Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. **Biomedical Reports**, v. 3, n. 5, p. 617-620, set. 2015. Disponível em: 10.3892/br.2015.481. Acesso em: 10 fev. 2025.

LIBERATO, M. da C. T. C.; MORAIS, S. M. de. **Produtos Apícolas do Ceará e suas origens florais**: características físicas, químicas e funcionais. 1.ed. Fortaleza: EdUECE, 2016. P. 179. Disponível em: http://www.uece.br/eduece/dmdocuments/PRODUTOS%20APICOLAS%20DO%20CEARA%CC%81%20E%20SUAS%20ORIGENS%20FLORAIS_CASADO.pdf. Acesso em: 08 fev. 2025.

LUDWIG, K. M. *et al.* Quantificação da floculação de *Saccharomyces cerevisiae* por bactérias contaminantes da fermentação alcoólica. **Food Science and Technology**, v. 21, n. 1, p. 63 - 66, jan. 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/CPJ55m76wTKddFyQQdxNFmC/?lang=pt>. Acesso em: 14 maio 2025.

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 Científica FUNVIC**, v. 1, n. 1, 2020. Disponível em: <https://www.revistaeletronicafunvic.org/index.php/c14ffd12/article/view/190/195>. Acesso em: 02 maio 2025.

MARTIN, J. S.; MARTIN, M. M. Tannin assays in ecological studies: precipitation of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase by tannic acid, quebracho and oak leaf foliage extracts. **Journal of Chemical Ecology**, v. 9, p. 285-294, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00988046>. Acesso em: 05 maio 2025.

MARTINEZ, Clarissa Rocha. **Caracterização química e citotoxicidade da própolis de *Apis mellifera* sobre fibroblastos de mucosa bucal humana**: estudo in vitro. 2011. 141 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/jspui/bitstream/123456789/315/1/Clarissa%20Rocha%20Martinez.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2025.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 405 - 411, 20 abr. 2022a. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/FmZNzDD5zCqqCBjMmcgdJmf/>. Acesso em: 08 fev. 2025.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 405 - 411, 20 abr. 2022b. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/FmZNzDD5zCqqCBjMmcgdJmf/>. Acesso em: 08 fev. 2025.

MORI, Lucas Teixeira. **Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* Δ gtt1**. 2024. 63 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Biociências) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2024. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/34379>. Acesso em: 15 abr. 2025.

MUELLER, L. P. *et al.* The effects of thermal and ethanolic stress in industrial strains of *Saccharomyces cerevisiae*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, e6819109091, out. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.9091>. Acesso em: 2 abr. 2025.

NOGUEIRA, N. S. G. **Avaliação do efeito do extrato aquoso de própolis sobre a viabilidade de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) e de adenocarcinoma de mama MDA-MB-231 irradiadas com Cobalto 60**. 2017. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos) – Universidade Federal do Amazonas, Itacoatiara, 2017. Disponível em: https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/6241/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o_Naira%20S.%20G.%20Nogueira.pdf. Acesso em: 11 maio 2025.

NUNES, C. F. *et al.* Padronização de uma amostra de extrato etanólico de própolis verde. **Revista Fitos**, v. 7, n. 1, p. 67–72, 31 mar. 2012. Disponível em: <https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/138>. Acesso em: 08 maio 2025.

OAKENFULL, D. Saponins in food - A review. **Food Chemistry**, v. 7, n. 1, p. 19–40, 1981. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0308814681900194>. Acesso em: 12 maio 2025.

OLIVEIRA, J.; MOMESSO, L. S. Chemical profile evaluation of commercial samples of propolis from *Apis mellifera* (brown propolis) and from *Baccharis dracunculifolia* (green propolis). In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIFIO. **Anais...** Ourinhos, São Paulo, Brasil, 2019.

OLIVEIRA, Giovani Chiovatto Cláudio de. **Própolis: uma revisão sobre origem, características, composição, aplicação e perspectivas**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2023. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/entities/publication/f7e0321b-6c9a-4678-a28b-dc26fdc5a614>. Acesso em: 08 fev. 2025.

PRICE, K. R.; JOHNSON, I. T.; FENWICK, G. R. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedingstuffs. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 26, n. 1, p. 27–135, 1987. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3308321/>. Acesso em: 10 maio 2025.

RADI, P. A.; TERRONES, M. G. H. Metabólitos secundários de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 20, n. 2, p. 18–22, 2007.

RODRIGUES, Sara Cristina Conde. **Avaliação dos efeitos citotóxicos em *Saccharomyces cerevisiae* exposta a cianotoxinas**. 2019. 44 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Faculdade de Ciências, Departamento de Biologia Vegetal, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ulisboa.pt/handle/10451/41908>. Acesso em: 15 abr. 2025.

SALATINO, A. *et al.* How diverse is the chemistry and plant origin of Brazilian propolis? **Apidologie**, v. 52, n. 6, p. 1075-1097, 1 out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13592-021-00889-z>. Acesso em: 13 maio 2025.

SALGUEIRO, F. B.; CASTRO, R. N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. **Química Nova**, v. 39, n. 10, p. 1192–1199, dez. 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/48pDqhxHgkhHKVWvmzrrcQf/>. Acesso em: 08 maio 2025.

SANTOS, D. C.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Composição química, atividade citotóxica e antioxidante de um tipo de própolis da Bahia. **Química Nova**, v. 40, n. 2, p. 171-175, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20160174>. Acesso em: 10 fev 2025.

SARABIA, D. T. *et al.* Ação de toxicidade dos agrotóxicos atrazina e ácido 2,4-diclorofenoxiacético na levedura Fleischmann. **Revista Educação Ambiental em Ação**, São Borja, v. 18, n. 68, jun. 2019. Disponível em: <https://www.revistaea.org/artigo.php?idartigo=3662>. Acesso em: 06 abr. 2025.

SCATOLINI, A. M. Estudo de hidroxiapatita contendo própolis de origem brasileira: caracterização, atividade antimicrobiana e efeito citotóxico dos materiais. 2017. 126 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências dos Materiais) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74133/tde-20092017-094523/publico/ME5193781COR.pdf>. Acesso em: 16 maio 2025.

SOUSA, J. P. L. D. M. *et al.* Chemical and antimicrobial potential study of Brazilian propolis produced by different species of bees. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 5, p. 1480–1497, 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/337069003_Chemical_and_Antimicrobial_Potential_Study_of_Brazilian_Propolis_Produced_by_Different_Species_of_Bees. Acesso em: 13 maio 2025.

TEIXEIRA, J. V. L.; AMORIM, M. V. P. Caracterização físico-química e fitoquímica da própolis de abelhas nativas sem ferrão na Caatinga. 2024. 18 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2024. Disponível em: <https://repositorio.unilab.edu.br/jspui/handle/123456789/5868>. Acesso em: 13 maio 2025.

YILMAZ, Filiz D. *et al.* Molecular characterization of propolis-resistant *Saccharomyces cerevisiae* obtained by evolutionary engineering. **Fermentation**, v. 11, n. 2, p. 47, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/fermentation11020047>. Acesso em: 15 maio 2025.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre; Florianópolis: UFRGS; UFSC, 2007. p. 577 - 611. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/315772641_Farmacognosia_da_Planta_ao_Medicamento. Acesso em: 10 maio 2025.