

# PROTEÇÃO DE FRUTOS COM PROPOLIS

Promotor: BeeCaramulo Lda.

Co-promotores: FCT-UNL, INIAV, COTHN



## Resumo

As perdas de frutas em pré e pós-colheita aumentaram significativamente nos últimos anos, causando um impacto negativo importante na atividade de produtores e distribuidores. As condições climáticas, desde a floração até a maturação do fruto, condicionam o seu estado fisiológico no momento da colheita, o que, por sua vez, afeta sua suscetibilidade a infeções fúngicas e bacterianas e influencia a evolução de sua qualidade durante a vida útil após a colheita.

A probabilidade de infeção fúngica ou bacteriana durante o período pré-colheita está fortemente correlacionada com a extensão da proliferação de microrganismos em pomares durante o ciclo vegetativo. A adoção de operações de limpeza preventiva pode reduzir a carga microbiana de solo e biomassa, mas as condições de temperatura e umidade ainda são fatores críticos para desenvolvimento e disseminação de fungos. Por outro lado, ao longo do tempo, alguns microrganismos desenvolveram resistência aos pesticidas tradicionais que, portanto, perderam eficácia. Além disso, a alta toxicidade de alguns agentes de proteção de plantas e as preocupações com sua migração através da cadeia alimentar levaram à introdução de limites legislativos sobre seu uso. Assim, existe agora um grande interesse na identificação de novos agentes com ação fungicida ou bactericida, efetivos na inibição da proliferação de microrganismos que infetam frutos em diferentes estágios do ciclo de produção e que não apresentem a estabilidade e ecotoxicidade de pesticidas sintéticos.



O própolis é um produto apícola conhecido por seu alto conteúdo fenólico e propriedades biológicas relevantes, tais como atividades antioxidante, antimicrobiana e anti-tumoral. As abelhas produzem própolis para isolar a colmeia e evitar a perda de calor, bem como a entrada de vento, chuva e eventuais predadores. O própolis também é usado para inibir os fungos e crescimento bacteriano dentro da colmeia, bem como para evitar a putrefação de pequenos animais que morrem dentro dela. As propriedades antimicrobianas do

própolis foram testadas contra numerosas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e motivam o uso de extratos de própolis em inúmeros produtos de higiene e desinfecção.

O principal objetivo do projeto PROFRUTA foi o desenvolvimento de um novo produto fitofarmacêutico derivado de própolis, e sua avaliação *in vitro* e *in vivo* usando peras como modelo de fruta. As atividades do projeto envolveram o produtor de própolis BeeCaramulo Lda. - um centro de transferência de interface e tecnologia para o setor de produção de frutas (COTHN - Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional) e duas unidades de pesquisa (FCT-UNL - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Nova Universidade de Lisboa e INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária). Produtores individuais e empresas envolvidas na produção de própolis e na produção, distribuição e transformação de frutas também participaram fornecendo amostras de teste e instalações para testes de campo.

As tarefas do projeto foram desenvolvidas ao longo de um período de três anos e incluíram:

- 1) Coleção de 30 amostras de própolis provenientes de diferentes regiões de Portugal e caracterização da composição química e atividades antioxidante e antimicrobiana, *in vitro*, dos extratos hidroalcoólicos correspondentes;
- 2) Fracionamento dos extratos brutos e caracterização das frações de hexano, acetato de etilo e água;
- 3) Avaliação da atividade antioxidante e atividade antimicrobiana das frações de própolis e dos seus principais 26 componentes individuais;
- 4) Desenvolvimento de formulações aquosas de própolis adequadas para uso no tratamento de frutos;
- 5) Avaliação da atividade antioxidante *in vivo* em peras e morangos tratados com extratos aquosos de própolis e determinação de parâmetros fisiológicos, incluindo o acastanhamento interno, durante o armazenamento;
- 6) Atividade anti-microbiana *in vivo* contra *P. expansum*, *S. vesicarium* em peras, utilizando extratos brutos e as correspondentes frações;
- 7) Produção e caracterização de extratos aquosos de própolis adequados para testes em grande escala;
- 8) Tratamento de azeitonas e peras na pré-colheita (no pomar) com própolis aquoso;
- 9) Tratamento de azeitonas de mesa com própolis aquoso durante o armazenamento;
- 10) Testes de campo do tratamento de peras com própolis aquoso e armazenamento sob diferentes atmosferas modificadas. Os testes foram realizados em dois anos subsequentes e as peras tratadas foram amostradas três vezes, a cada dois meses após o armazenamento;

11) Uso de extratos aquosos de própolis para tratar frutas antes de tratamentos de secagem para produzir fruta fatiada e desidratada;

12) Avaliação fisiológica e sensorial de frutos tratados com própolis aquoso.

**Conclusões principais** - O própolis é um material heterogêneo com uma composição que depende da flora disponível, que varia com a origem geográfica e o período do ano. Os principais componentes do própolis português são flavonas, chalconas, ácidos hidroxicinâmicos, terpenos, ceras e ácidos gordurosos; a composição qualitativa é bastante constante, mas as concentrações de componentes ativos são maiores em amostras recolhidas na região central de Portugal (distritos de Coimbra, Castelo Branco, Aveiro, Viseu e Guarda) e no período de Abril a Setembro.

As dispersões aquosas de extratos concentrados etanólicos em água até uma concentração final de etanol de 10% resultaram na formação de emulsões estáveis que preservaram uma quantidade significativa de componentes de própolis bioativos e permitiram uma boa adesão à superfície da fruta, como resultado do efeito de etanol sobre a tensão superficial da água. Extratos de própolis, suas frações e a maioria dos principais componentes individuais apresentaram altas respostas nos testes de atividade antioxidante: fenóis totais, atividade antiradicalar e atividade de redução férrica. A atividade *in vitro* de antibióticos dos extratos de própolis foi confirmada para os microrganismos: seis bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Enterococcus faecalis*); uma levedura (*Candida albicans*); Cinco fungos fitopatogênicos (*Penicillium expansum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Stemphylium spp*, *Stemphylium vesicarium* e *Botrytis cinerea*). Os testes *in vivo* mostraram que os extratos de própolis inibem a proliferação de fungos nas peras, de modo que esses extratos podem ser utilizados como agentes preventivos e agentes desinfetantes. No entanto, a aplicação desses extratos em combinação com outro agente fitofarmacêutico pode ser necessária para atingir uma baixa percentagem de frutas afetadas. O uso simultâneo de extratos de própolis e outro fungicida natural ou uma menor concentração de um pesticida tradicional poderão ser explorados. Outra conclusão foi que a aplicação pré-colheita reduziu a infecção de frutos e, portanto, uma combinação de tratamentos pré-colheita e pós-colheita pode melhorar o grau de proteção.

Os testes de atividade antioxidante *in vivo* mostraram uma redução do acastanhamento interno das peras durante os primeiros meses de armazenamento. Os componentes bioativos de própolis foram detetados na casca e polpa das peras tratadas, pelo que este tratamento também pode ser usado como ferramenta para a fortificação de frutas com componentes fenólicos. A avaliação fisiológica e sensorial de peras tratadas com extratos de própolis não apresentou alterações significativas nos parâmetros físico-químicos e uma boa aceitação pelos painéis de teste.

Os extratos de própolis também foram utilizados no tratamento de fatias de frutas a serem desidratadas (peras, maçãs e abacaxi), a fim de avaliar seu efeito na oxidação e acastanhamento da superfície, conteúdo fenólico total e qualidade sensorial. Resultados positivos foram obtidos no que diz respeito à concentração total de fenóis e à aceitação organolética.

Em conclusão, a aplicação de extratos de própolis em pré e pós-colheita pode contribuir para uma proteção mais sustentável dos produtos de frutas, limitando as perdas devido a infeções por fungos ou bactérias, ao mesmo tempo que diminui a aplicação de agentes fitofarmacêuticos tóxicos e persistentes. Além das vantagens ambientais e de segurança alimentar desta abordagem, esta estratégia reforçará a cooperação entre dois setores agrícolas e deverá estimular a industrialização da produção de própolis. Além disso, a fortificação de frutas com componentes de própolis pode contribuir para a melhoria do seu valor nutracêutico, dado os efeitos antioxidantes e anticancerígenos relatados dos extratos de própolis e seus componentes.

- **Catarina Ferreira**

E-mail: [beecaramulo@gmail.com](mailto:beecaramulo@gmail.com); Entidade: BeeCaramulo Lda.

- **Maria Margarida Gonçalves**

E-mail: [mmpg@fct.unl.pt](mailto:mmpg@fct.unl.pt); Entidade: Faculdade de Ciências e Tecnologia, UNL

- **Claudia Sanchez Lara**

E-mail: [sanchezlara.cv@gmail.com](mailto:sanchezlara.cv@gmail.com); Entidade: Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV)

- **Carmo Martins**

E-mail: [carmo@cothn.pt](mailto:carmo@cothn.pt); Entidade: Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional (COTHN)

- **SITE PROFRUTA:** <http://sites.fct.unl.pt/profruta>

