

Ação antibacteriana da geoprópolis da abelha *Melipona mondury*

Mariana Araujo Novaes ¹, Julianna Alves Torres ²

¹ Graduanda do Curso Bacharelado em Engenharia de Alimentos, IF Baiano campus Uruçuca.
marinovaes2015@gmail.com

² Orientadora e Professora do Curso Engenharia de Alimentos, IF Baiano campus Uruçuca.
julianna.torres@ifbaiano.edu.br

Resumo: Produtos obtidos a partir da meliponicultura estão sendo utilizados pelo homem a milhares de anos, exemplo é a geoprópolis, uma mistura de barro com própolis confeccionada exclusivamente por espécies de abelhas sem ferrão. Atividade anti-inflamatória e antioxidante foram destacadas em estudos no mel, própolis e na geoprópolis, atribuídas aos diversos compostos polifenólicos que os compõem. Este artigo trata-se de um Trabalho de Conclusão de Curso que objetivou-se analisar a ação antibacteriana e físico-química do extrato de geoprópolis da *Melipona mondury* em determinadas bactérias oriundas de alimentos de origem animal, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, sendo respectivamente isoladas em leite cru e requeijão. Como resultado, podemos observar que *in-vitro* com 15% de concentração, o extrato inibiu totalmente o desenvolvimento das bactérias analisadas, em todas as amostras. Diante das análises físico-químicas o extrato analisado não atende aos requisitos de extrato seco e cera, pelos parâmetros do Regulamento Técnico de Identidade de Qualidade (RTIQ) de Própolis, no entanto trata-se de um produto com excelente potencial como alimento funcional ou medicinal, porém requer mais estudos. Diante dos resultados observados, pode-se determinar que o extrato de geoprópolis atuou como antibacteriano nos microrganismos patogênicos analisados.

Palavras-Chaves: Meliponicultura, Microbiologia, Própolis, Uruçu Amarela.

Abstract: Products obtained from meliponiculture have been used by man for thousands of years, such as geopropolis, a mixture of clay and propolis made exclusively by species of stingless bees. Anti-inflammatory and antioxidant activity were highlighted in studies in honey, propolis and geopropolis, attributed to the various polyphenolic compounds that compose them. This article is a Course Completion Work that aimed to analyze the antibacterial and physical-chemical action of geopropolis extract from *Melipona mondury* on certain bacteria from food of animal origin, such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, respectively isolated from raw milk and curd. As a result, we can observe that *in-vitro* with 15% concentration, the extract totally inhibited the development of the analyzed bacteria, in all samples. In view of the physical-chemical analyses, the analyzed extract does not meet the requirements of dry extract and wax, by the parameters of the Technical Regulation of Quality Identity (RTIQ) of Propolis, however it is a product with excellent potential as a functional or medicinal food, but requires further studies. Based on the observed results, the geopropolis extract acted as an antibacterial agent in the analyzed pathogenic microorganisms.

Keywords: Meliponiculture, Microbiology, Propolis, Yellow Uruçu.

INTRODUÇÃO

A meliponicultura trata da criação de abelhas nativas sem ferrão, atividade que abrange os princípios da sustentabilidade, mediante a ampliação da atividade, possibilita geração de renda e atua para a soberania alimentar das famílias. Além disso, as abelhas podem contribuir com seu potencial polinizador, aumentando a produtividade de inúmeros cultivos (GEMIM e SILVA, 2017).

As abelhas sem ferrão ou meliponíneos compõem o grupo mais diversificado de abelhas sociais e estão distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo. A utilização dos diversos produtos da meliponicultura é milenar entre os povos das Américas. De acordo com Guedes (2018), alguns estudos destacam a atividade anti-inflamatória e antioxidante do mel e da geoprópolis, atribuídas aos diversos compostos polifenólicos que os compõem.

Os produtos oriundos das abelhas têm sido implantados na medicina veterinária, como por exemplo, seu uso como estimulador cicatrizante em casos de feridas em equinos e cães, inibição do crescimento de protozoários ciliados do rúmen de búfalos, além da eficiência para proteger as células epiteliais mamárias bovinas contra patógenos, que atuam estimulando o processo inflamatório em casos de mastite (SANTOS *et al.*, 2020).

Uma das mais importantes ações da própolis é a sua atividade antibacteriana, onde a emergência de bactérias multirresistentes têm limitado a efetividade dos antibacterianos usuais. Segundo Lima *et al.* (2018), dentre as bactérias com altas taxas de resistência, é a *Staphylococcus aureus* que é a responsável por infecções potencialmente letais.

Azevedo (2019), afirma que muitos microrganismos apresentam resistência aos antibióticos e que estes medicamentos possuem reações adversas conhecidas na literatura, logo é perceptível a importância dos produtos oriundos da meliponicultura. Alguns resultados obtidos da análise do potencial bacteriano referentes ao extrato alcóolico de geoprópolis de abelha *Plebeia aff. Flavocincta* em relação aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, em condições ideais, foram considerados eficazes demonstrando efeito inibitório frente às duas bactérias em estudo.

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Própolis, é definida como o produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e

balsâmicas, colhidas pelas abelhas, de brotos, flores e exsudados de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto (BRASIL, 2001).

A Geoprópolis é semelhante à própolis das abelhas do gênero *Apis*, uma vez que ambos os produtos contêm resina vegetal e cera de abelha. Também conhecida como batume, ela é uma mistura de barro com própolis confeccionada por espécies de abelhas sem ferrão, principalmente as do gênero *Melipona*, para vedar frestas e formar as paredes e entrada das colônias (A.B.E.L.H.A., 2015).

A quantidade de material de solo agregado à resina é o que distingue a geoprópolis. Entretanto, alguns tipos de resinas de abelhas nativas podem ser consideradas simplesmente como "própolis" devido a mínima ou inexistente quantidade de partículas de solo que é depositada juntamente com a resina (ARAUJO *et al.*, 2015).

Atividades antioxidante, antimicrobiana e a composição química da geoprópolis podem ser influenciadas pela localização geográfica, bioma que pertencem, plantas visitadas, época de coleta e a variação sazonal como demonstra Gabriel (2018) Há legislação brasileira para regulamentar a padronização de produtos da apicultura para fins de comercialização, um cenário contrário existe para produtos de abelhas sem ferrão, que até o momento não é aproveitado economicamente embora demonstra ser um recurso natural que pode no futuro representar uma alternativa medicinal (Cunha *et al.*, 2017)

Dado os fatos, objetivou-se analisar o extrato de geoprópolis quanto a sua ação antibacteriana e físico-química em determinadas bactérias oriundas de alimentos de origem animal, microrganismos comumente encontrados em análises requisitadas pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 331 de 2019 (Brasil, 2019) como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

METODOLOGIA

As geoprópolis para os preparos dos extratos foram colhidas dos enxames da Fazenda Santa Rita, Ilhéus - BA (duas amostras de períodos distintos) e do meliponário do IF Baiano *campus* Uruçuca (uma amostra). Visando aumentar o número de testes e embasar um resultado seguro, foi doado a pesquisa treze amostras de Mata de São João (Costa do Sauípe), Araçás e Jussari, municípios baianos. As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de

microbiologia do Centro de Tecnologia de Alimentos do IF Baiano *campus* Uruçuca. Os procedimentos seguiram todos os protocolos para o uso do laboratório e os de prevenção contra a SARS-COV-2, devido à pandemia presente no período em questão.

Extrato de geoprópolis

Atendendo aos cuidados na colheita, de extrair de acordo com a espessura e brilho da geoprópolis, pois mais finas e brilhantes são proporcionais a menos barro, maior quantidade de resina e estarem recém produzidas.

Todas as amostras foram armazenadas em sacos plásticos e congeladas por um período mínimo de 24 horas, para evitar a proliferação de microrganismos degradantes do produto. Depois a geoprópolis foi macerada e inserida em frascos de vidro âmbar, evitando a interação com a luz, juntamente com o álcool de cereais a 70%, por se tratar de um produto para consumo. O frasco foi agitado diariamente para que todos os componentes reagissem com o álcool e para que fossem extraídos do composto. Esse processo foi repetido por um período médio de 45 dias, até ser perceptível olfativamente a perda do cheiro predominante do álcool e o odor característico da geoprópolis passasse a ser notório. A mistura foi escoada através de filtro de papel e armazenada em garrafas esterilizadas, semelhantes à da produção.

As formulações foram realizadas baseadas no peso das substâncias, sendo amostras de concentrações variadas de geoprópolis, onde as análises subsequentes estão congruentes à concentração do substrato. Sendo assim para um extrato de geoprópolis a 30% é necessários 600g de geoprópolis e 1400g de álcool de cereais a 70%.

Mediante a uma parceria com meliponicultores do sul da Bahia foram enviadas amostras de diferentes meliponicultores, a fim de serem realizados testes de sensibilidade, agregando ao trabalho em número de amostras de distintos meliponários (com disponibilidades diferentes de flora) e datas variadas de colheita, ampliando o âmbito de testes e credibilizando os resultados.

Identificação das bactérias

Para a obtenção de bactérias patogênicas de origem alimentar, análises em

alimentos de origem animal foram realizadas, visando isolar *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (coagulase positiva), comumente solicitadas pela RDC nº 331 de 2019 (BRASIL, 2019), que dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. A metodologia utilizada seguiu a orientação do “Manual de métodos de análises microbiológicas em alimentos e água” (SILVA *et al.*, 2017), métodos de análises manual e tradicional com vidrarias, em alimentos como leite, carne bovina, requeijão e ovo.

Teste de Inibição

Visando avaliar a geoprópolis como agente inibitório do crescimento de microrganismos patogênicos, dessa forma, as amostras foram diluídas em até mil vezes, para que fosse possível a observação de um número mínimo ao consumo do extrato de geoprópolis diluída com ação efetiva de inibição de microrganismos em reação *in-vitro*.

As diluições foram realizadas em meio de cultura de enriquecimento, Caldo de infusão cérebro-coração (Caldo BHI), incubadas em estufa BOD no período de 24 ± 2 horas à $35-37^\circ\text{C}$ sendo repicado para observação dos resultados em placas de Ágar infusão cérebro-coração (Ágar BHI) como indicado na imagem 01, incubada pelo mesmo tempo e temperatura, tais meios permitem o desenvolvimento da bactéria sem nenhum composto extra que impeçam ou as diferencie (metodologia adaptada de Silva, 2017).

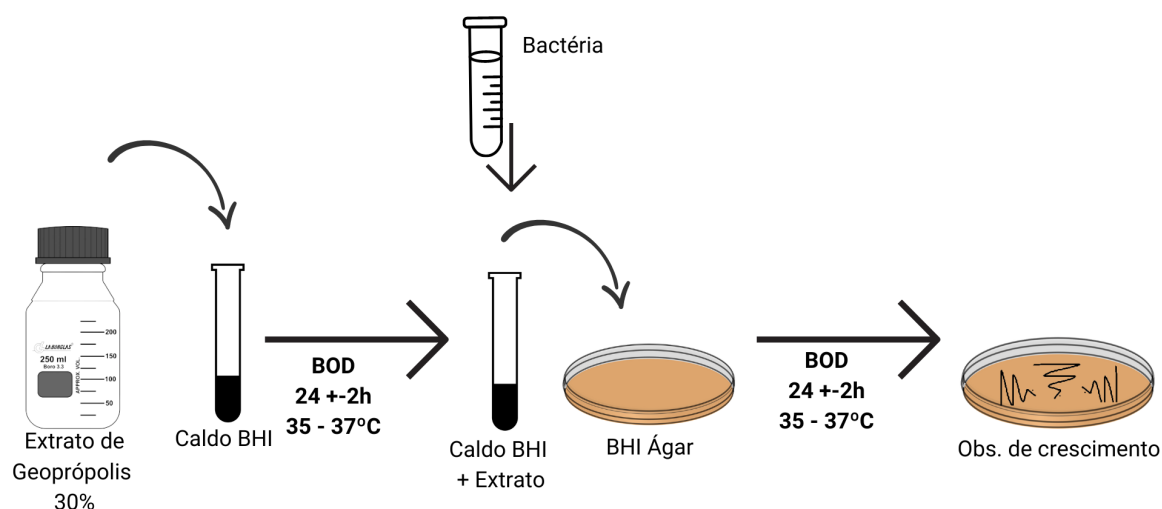


Imagem 01: Processo da análise de inibição com o extrato de geoprópolis. Fonte: Acervo pessoal

Em tubos de ensaio, foram adicionados volumes variados do caldo BHI, e

completado de extrato para o volume total de 10 mL, sendo assim, com uma amostra de concentração de 30% de extrato de geoprópolis, este foi adicionado 1mL como agente antimicrobiano em 9mL de caldo BHI, sendo a diluição resultante uma concentração de 3,3%, do mesmo modo 2 mL de extrato em 8 mL de caldo BHI para uma concentração de 7,5% de geoprópolis, e ao final da homogeneização inoculado 1 mL da bactéria a ser testada. Observando e analisando os resultados, as amostras com melhores concentrações foram feitas em triplicatas, para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos.

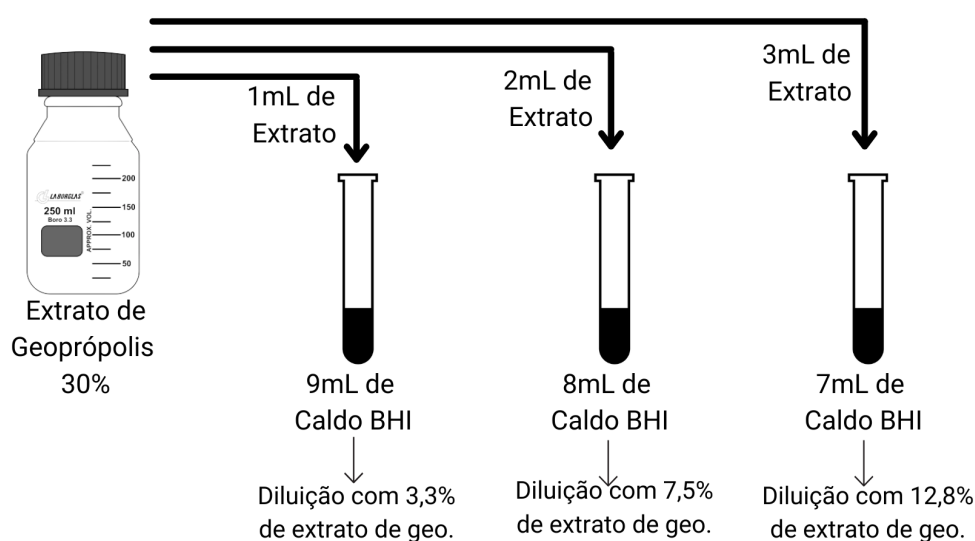


Imagem 02: Diluição do extrato de geoprópolis. Fonte: Acervo pessoal

Visando avaliar o álcool de cereais presente no extrato, para garantir que o agente inibitório trava-se da geoprópolis, foi inoculado ambas as bactérias em álcool de cereais (álcool 70% diluído em Caldo BHI) de concentrações semelhantes às testadas com o extrato de geoprópolis como ilustrado na imagem 03.

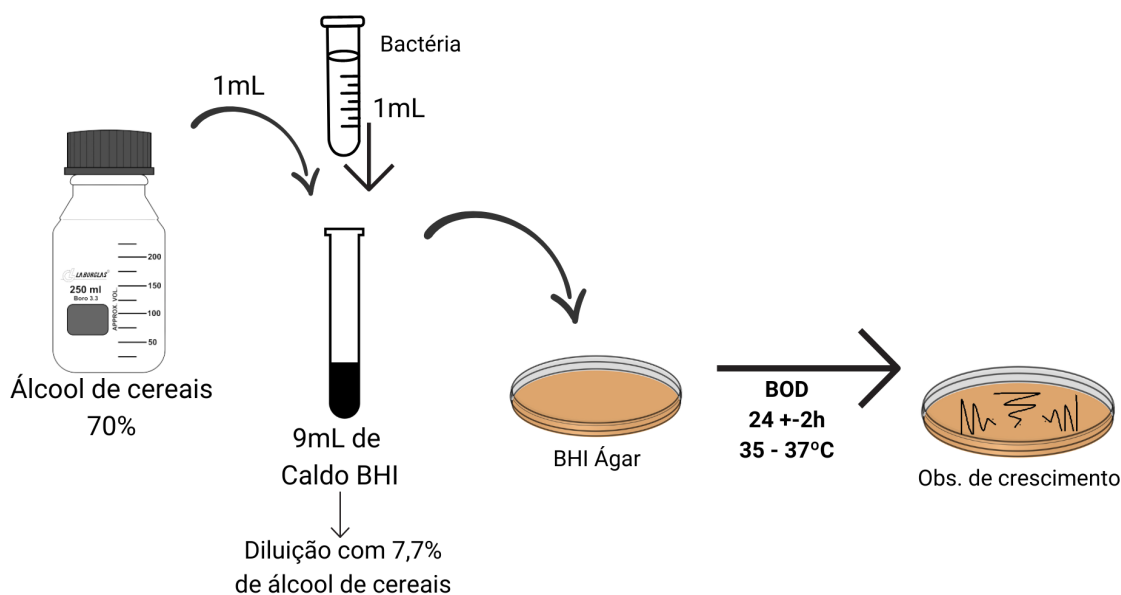


Imagem 03: Diluição do álcool de cereais. Fonte: Acervo pessoal

Ressalta-se que foram feitos brancos/ controles, em que os materiais como meios e álcool utilizado nas análises, sem a inoculação de bactérias ou misturas, foram incubados para verificar o desenvolvimento de microrganismos caso estivessem contaminados, garantindo que fossem utilizados materiais limpos e estéreis a fim de não invalidar os resultados desta pesquisa.

Análises físico-químicas

Uma amostra de 24% de geoprópolis foi enviada ao laboratório “Vida natural produtos naturais LTDA” em São Paulo, onde foram realizadas as análises de extrato seco; atividade de oxidação, brix, acetato de chumbo, hidróxido de sódio e cera.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados diversos alimentos com resultado negativo, como leite pasteurizado, carne bovina, ovos (de granja e de galinha caipira), foram isoladas as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* de leite cru e requeijão respectivamente.

A concentração mínima para o início da sensibilização das bactérias *S. aureus* e *E. coli* foi a concentração de extrato de 4%, que não inibe o crescimento total, mas é perceptível que há redução do crescimento das colônias, como ilustra a

imagem 04. A concentração de 7% resultou na inibição total em 15 amostras para *E. coli* e 12 amostras para *S. aureus*, as demais houve sensibilização nas colônias, como descrito na tabela 01.

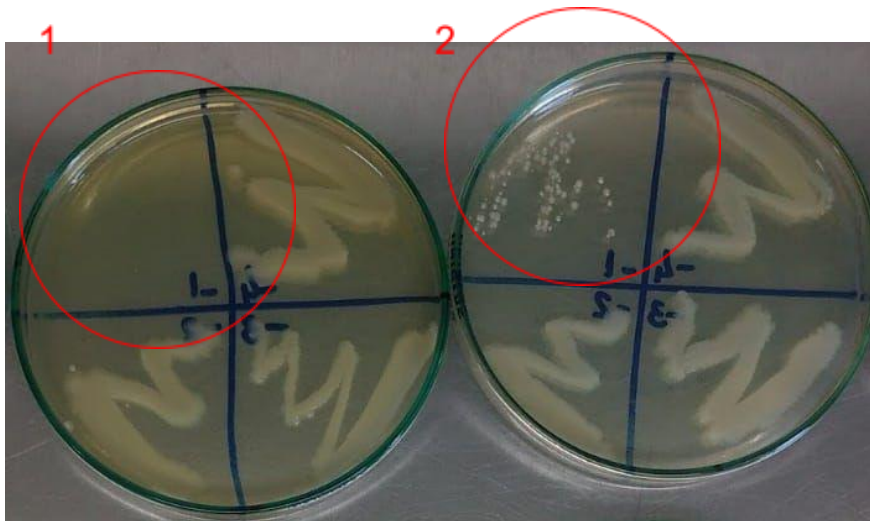


Imagem 04: Percepção ocular de sensibilização ou inibição parcial (1) e inibição total (2).

Fonte: Acervo pessoal

Tabela 01: Dados referente a inibição de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em amostras à uma concentração de 7%. Fonte: Acervo pessoal

Amostra 7%	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Uruçuca 01	IP	IT
Uruçuca 02	IT	IP
Uruçuca 03	IT	IP
Costa 04/20	IT	IT
Costa 06/20	IT	IT
Costa 12/20	IT	IT
Costa 02/21	IT	IP
Costa 03/21	IT	IT
Costa 04/21	IT	IT
Costa 05/21	IT	IT
Costa 06/21	IT	IT
Costa 07/21	IT	IT
Araçás I	IT	IT

Amostra 7%	E. coli	S. aureus
Araçás J	IT	IP
Araçás C	IT	IT
Jussari	IT	IT

Legenda: IT= Inibição Total das colônias; IP= Inibição Parcial das colônias.

Diante das diluições do extrato de geoprópolis foi possível observar diferenças de resultados, quando se tem produtos distintos quanto a datas de colheita e locais, comprovado de maneira *in-vitro* que todas as amostras de extrato à 15% de concentração inibiram totalmente o desenvolvimento das bactérias patogênicas analisadas.

Diante dos resultados em álcool de cereais diluído a 7% de concentração em caldo BHI, as bactérias *S. aureus* e *E. coli* não demonstraram a mesma sensibilidade microbiológica, como observou-se com o extrato como observado na tabela 01, em mesma concentração, deste modo afirmando a ação antibacteriana provém do extrato e não do álcool.

Quanto às análises físico-químicas existe um contraponto em virtude da ausência de uma regulamentação específica aos produtos oriundos da meliponicultura, por isso, foi utilizado como parâmetro a Instrução Normativa DAS nº 03 de 19/01/2001 para Regulamento de identidade e qualidade de extrato de própolis, por se tratar do regimento mais próximo ao produto em estud. A IN determina uma porcentagem mínima de 11% de extrato seco, parâmetro base para comercialização do produto.

Tabela 02: Resultados das análises físico químicas. Fonte: Acervo Pessoal

Análises realizadas	Resultados	Parâmetro de Aprovação
Extrato Seco	0,85%	Mínimo 11%
Atividade de Oxidação	3 seg	Máx. 22 seg
Brix	19%	xx
Acetato de Chumbo	Positivo	Positivo
Hidróxido de Sódio	Positivo	Positivo
Cera	5,65%	Máximo 1%(m/m)

De acordo com os parâmetros utilizados (Tabela 02), o extrato analisado não atende aos requisitos de extrato seco e cera para própolis, trata-se de um produto com excelente potencial, no entanto sem padrão especificado por legislação própria à geoprópolis, implicando em questionamentos sobre a reavaliação da utilização dessas normativas, visto que os fatores microbiológicos foram atendidos, possibilitando que sejam analisados outros compostos que são presentes na geoprópolis e que não são obrigatórios nas análises da própolis, além de dados que possam ser utilizados para a criação de outra instrução normativa ou revisão da que está em vigência das *Apis mellifera*.

A geoprópolis é um novo produto a ser explorado, produzido pelas abelhas sem ferrão, principalmente as *Meliponas*, produto este que não possui legislação específica. Este fato torna esse trabalho relevante, ao realizar o levantamento de dados científicos, sugerindo a abrangência de pesquisas no ramo, a fim de fundamentar o conhecimento popular acerca de um produto natural com potencial medicinal.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados observados o extrato de geoprópolis atuou como antibacteriano nos microrganismos patogênicos analisados (*E. coli* e *S. aureus*) com concentrações de 4%, 7% e 15%, com reações distintas, sendo a última responsável pela inibição total das duas bactérias e em todas as amostras.

Por não haver legislação específica para geoprópolis de *Meliponas*, os resultados físico-químicos foram comparados aos parâmetros existentes, conforme a IN da própolis de *A. mellifera*, por isso destaca-se a necessidade de mais pesquisas, assim como regimentos para o produtos de origem da meliponicultura. Assim como estudos específicos para avaliar o potencial desses produtos para aplicação em diversas áreas, como alimentícia e farmacêutica. Existem centenas de espécies de abelhas sem ferrão, as quais precisam ser estudadas, assim como seus produtos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me proporcionar força diária e perseverança para lidar com as dificuldades encontradas nessa fase. Foram muitas experiências que garantiram meu crescimento profissional/pessoal.

Aos meus pais Celeste Novaes e Antonio Novaes, irmão Hugo Novaes por me fornecerem todo o apoio que eu precisei, pela confiança depositada por terem proporcionados os meios necessários para a realização deste sonho e sem vocês nada disso seria possível, minha eterna gratidão.

À Judson Lopes, meu namorado, por fazer parte da caminhada deste sonho, sendo meu sustento nos momentos difíceis, obrigada pelas experiências e por todo amor dedicado.

Aos meus amigos por nunca deixarem faltar alegria nos momentos compartilhados, estarem presentes quando a minha família não pode e me fazer entender o significado de pertencimento além do sangue, levarei vocês todos para a vida Jaqueline Sandes, Isadora Paixão, Nádia Oliveira e Venicius Sena.

Aos colegas e amigos do IF Baiano que compartilharam comigo diversos momentos de felicidade e dificuldades, fornecendo suporte e trocando experiências que surgiram durante o curso, jamais esquecerei vocês, e ninguém largou a mão de ninguém em? Camilla Alves, Kaianne Ferreira e Salatiel Mathias.

Sem faltar a minha orientadora e agora amiga Julianna Torres, que embarcou na experiência, me apoiando, incentivando e instruindo nesse processo todo, haverá sempre um lugar ao meu coração e eterna gratidão, até por me permitir conhecer e amar Juju e Peu.

REFERÊNCIAS

ABELHA, **Associação Brasileira do Estudo das Abelhas**, 2015. Disponível em: <https://abelha.org.br/glossario/geopropolis/> Acesso em 23 out. 2022

ARAUJO, Maria *et al.* Composição química e atividades farmacológicas da geoprópolis produzida por *Melipona fasciculata* Smith no Nordeste do Brasil. **Journal of Molecular Pathophysiology** , v. 4, n. 1, pág. 12-20, 2015. Disponível em: <https://www.jmolpat.com/abstract/the-chemical-composition-and-pharmacological-activities-of-geopropolis-produced-by-melipona-fasciculata-smith-in-northeast-47741.html> Acesso em: 23 nov. 2022

AZEVEDO, Danielly Carneiro de. **Análise das propriedades antimicrobianas do mel e da geoprópolis da abelha *Plebeia aff. flavocincta* frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis***. 2019. 32 p. Artigo (Mestrado em Sistemas Agroindustriais.) - Universidade Federal de Campina Grande Campus Pombal, Pombal - PB, 2019. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/6596>. Acesso em: 28 set. 2022.

BRASIL. Instrução Normativa SDA nº 03, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 18, 23 jan. 2001. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=46&data=23/01/2001> . Acesso em: 23 ago. 2022

BRASIL. Resolução RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da União**: seção 1, ano 249, p. 96, 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272> . Acesso em: 12 set. 2021.

CUNHA, Mayara Soares. **Composição química e atividade antitumoral da geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith**. 2017. 139 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/CCBS) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís. Disponível em : <https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/tede/2456> Acesso em 29 nov. 2022

GABRIEL, Mariana Budóia. *Melipona quadrifasciata*: atividades biológicas e composição química da geoprópolis. **Revista Ensaios Pioneiros**, v. 2, n. 2, p. 25-38, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.24933/rep.v2i2.179> Acesso em: 29 nov. 2022

GEMIM, Bruna Schmidt; SILVA, Francisca Alcivania de Melo. Meliponicultura em sistemas agroflorestais: alternativa de renda, diversificação agrícola e serviços ecossistêmicos. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 11, n. 4, p. 361-372, 2017.

Disponível em: <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v11i4.4156> Acesso em: 02 out. 2022.

GUEDES, Helena Karolyne Arruda. **Avaliação antimicrobiana do mel e da geoprópolis da *Plebeia aff. flavocincta* aos agentes *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli***. 2018. 31 p. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais.) - Universidade Federal de Campina Grande Campus Pombal, Pombal - PB, 2018. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/3177> . Acesso em: 28 set. 2022.

LIMA, Alane Torres de Araújo *et al.* Avaliação do potencial antimicrobiano da própolis contra bactérias potencialmente patogênicas. **Anais do Seminário Científico do UNIFACIG**, n. 4, 2018. Disponível em: <http://pensaracademico.facig.edu.br/index.php/semiarociencia/article/view/742> Acesso em: 20 set. 2022

SANTOS, Laerte M. *et al.* Própolis: tipos, composição, atividades biológicas e prospecção de patentes de produtos veterinários. **Journal of the Science of Food and Agriculture** , v. 100, n. 4, pág. 1369-1382, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10024> Acesso em: 23 nov. 2022

SILVA, N *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**, 5ªed. - São Paulo: Blucher, 2017.