

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DA GEOPRÓPOLIS DA  
ABELHA SOCIAL SEM FERRÃO URUÇU (*Melipona scutellaris*  
Latreille, 1811) PROVENIENTE DA BAÍA DO IGUAPE-BA**

**RENATA DE LIMA**

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

FEVEREIRO - 2015

**CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DA GEOPRÓPOLIS DA  
ABELHA SOCIAL SEM FERRÃO URUÇU (*Melipona scutellaris*  
Latreille, 1811) PROVENIENTE DA BAÍA DO IGUAPE-BA**

**RENATA DE LIMA**

Licenciada em Ciências Agrárias  
Universidade Federal da Paraíba, 2013.

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias  
da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,  
como requisito parcial para obtenção do Grau de  
Mestre em Ciências Agrárias, Área de  
Concentração Fitotecnia.

**Orientador: Profa. Dra. Geni da Silva Sodré**

**Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA - 2015

## FICHA CATALOGRÁFICA

L732c

Lima, Renata de.

Características biológicas da geoprópolis da abelha social sem ferrão urucu (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) proveniente da Baía do Iguape-BA / Renata de Lima. Cruz das Almas, BA, 2015.

76f.; il.

Orientadora: Geni da Silva Sodré.

Coorientador: Carlos Alfredo Lopes de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1. Abelha sem ferrão – Criação. 2. Própole – Produção. 3. Microbiologia – Análise. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD: 638.1



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
RENATA DE LIMA

*GSSod*

---

Membro Presidente: Profa. Dra. Geni da Silva Sodré  
Instituição: UFRB

*[Assinatura]*

---

Membro Externo à Instituição: Profa. Dra. Daniela Anacleto de Almeida  
Instituição: IFBAIANO

*[Assinatura]*

---

Membro Externo ao Programa: Profa. Dra. Norma Suely Evangelista Barreto  
Instituição: UFRB

Homologada em     /     /     .

## DEDICATÓRIA

Á Deus, por iluminar todos os meus passos e que me permite vivenciar a grandeza da vida. Aos meus pais Gentil Trajano da Silva (*in memoriam*) e Maria Rita de Lima, não há palavras suficientes para agradecer – lhes por tudo de bom que fizeram e fazem por mim... Aos meus irmãos que sempre estiveram torcendo por minhas vitórias e conquistas. Sempre me deram todo o apoio e amor que eu precisei, de forma incondicional. Vocês são a razão da minha vida. Obrigada! Vocês são pessoas muito especiais! Amo muito vocês!

“O segredo de uma vida vitoriosa é saber lidar com as dificuldades, tirar lição delas, usa-las a nosso favor”.

(Autor desconhecido)

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, pela chance de poder realizar meus sonhos, por estar presente em todos os momentos de minha vida e por permitir chegar onde cheguei e colocar pessoas tão especiais em minha vida.

A minha família Maria Rita de Lima (mãe), Gentil Trajano da Silva (pai), Francisco de Lima, Ivoneide Lima da Fonseca, Renato de Lima, Reginaldo de Lima (irmãos), Ingrid Victória da Fonseca Silva (sobrinha), Luciana da Fonseca Barbosa e Arlen da Fonseca Barbosa (primos). Agradeço de todo coração pelo incentivo, apoio, amor, confiança, orações e pela “minha ausência” em suas vidas.

Aos meus amigos que conquistei durante a pós-graduação que sempre estiveram comigo em todos os momentos da minha trajetória me dando força, sendo companheiros nos momentos fáceis e difíceis, pessoas que levarei para sempre em minha vida; Leonardo de Oliveira Barbosa, Marina Santos Monteiro, Vitor Hugo Santos Monteiro, Adailton Freitas Ferreira, Cátia Ionara Santos Lucas, Margarida Ventura Santana, Juliana Fernandes dos Santos, Walter Cruz Magalhães, Mariza Alves Ferreira, Eloi Machado Alves, Luanda Emely de Lima Souza. Muito Obrigado pela amizade incomparável e pelo exemplo de dedicação e força.

Aos meus orientadores Dra. Geni da Silva Sodré e ao Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho, a quem sou grata pela orientação, paciência, amizade, ensinamentos, compreensão, principalmente por todos esses anos de convivência que serviram para meu crescimento profissional e pessoal.

A equipe do Grupo de Pesquisa INSECTA pela colaboração para realização dos trabalhos de pesquisa de minha dissertação, pelos ensinamentos, vocês são pessoas que pude ter confiança e que sou imensamente grata, vocês são muito além de amigos de trabalhos.

A todo corpo docente e funcionários do Programa de Pós- Graduação em Ciências Agrárias, pelos ensinamentos, que serviram para meu crescimento profissional.

A CNPq, pelo apoio financeiro com a concessão da bolsa de estudos.

A Leonardo de Oliveira Barbosa meu namorado onde meu amor por ele é tão forte, que consegue superar todas as barreiras, enfrentar todos os obstáculos e prevalecer forte e intenso. Você é mais do que eu sonhei, confesso que nunca acreditei em cara metade, até o dia que eu te conheci, ou melhor, até o dia que me apaixonei por você. Nunca pensei que iria conseguir amar tão intensamente por tanto tempo, saiba que meu amor por você é verdadeiro, e isso é uma prova que ele nunca irá se acabar. Agradeço a Deus que colocou uma pessoa tão abençoada em minha vida. Eu te amo, e vou esta sempre perto de você meu amor lindo. Você é um anjo bom que Deus colocou em minha vida.

Ao pessoal que morou e mora comigo na república dividindo não só as atividades mais também as alegrias e conquistas, Leonardo de Oliveira Barbosa (Leo) e Lucas Kennedy por serem pessoas tão especiais, incondicionais e importantes na minha vida. Por dividirem momentos fáceis e difíceis, que sempre me ouviram quando precisei, me apoiou, me fizeram rir muito e... também, por me fazer feliz.

Por fim meu mais profundo reconhecimento a todos aqueles que, direta ou indiretamente, tornaram possível a realização deste trabalho. Seus nomes são citados, pois a extensão e o significado de sua colaboração em toda a minha vida acadêmica é de suma importância e não poderia deixar de expressar meus agradecimentos a todos, que DEUS abençoe. Obrigada!

## SUMÁRIO

Página

RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	01

### Capítulo 1

INFLUÊNCIA DE PARÂMETROS CLIMÁTICOS NA PRODUÇÃO DA GEOPRÓPOLIS DE <i>Melipona scutellaris</i> Latreille, 1811 NA BAÍA DO IGUAPE-BA.....	09
---	----

### Capítulo 2

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DA GEOPRÓPOLIS DE <i>Melipona scutellaris</i> Latreille, 1811 DA BAÍA DO IGUAPE-BA.....	31
--	----

### Capítulo 3

AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA GEOPRÓPOLIS FRENTE À <i>Staphylococcus aureus</i> E <i>Salmonella</i> Enteritidis.....	48
---	----

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
---------------------------	----

ANEXO.....	65
------------	----

# CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DA GEOPRÓPOLIS DA ABELHA SOCIAL SEM FERRÃO URUÇU (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) PROVENIENTE DA BAÍA DO IGUAPE-BA

**Autor:** Renata de Lima

**Orientador:** Profa. Dra. Geni da Silva Sodré

**Coorientador:** Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

**RESUMO:** Este estudo teve por objetivo avaliar a produção da geoprópolis de *Melipona scutellaris* na Baía do Iguape, Bahia, bem como sua composição microbiológica e sua atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis. Para isso o trabalho foi dividido em três etapas. Na primeira etapa inicialmente foram instalados dois Meliponários na Baía do Iguape, utilizando dez colônias de *M. scutellaris*. Durante doze meses, as abelhas foram estimuladas a produzir geoprópolis utilizando o método dispositivo coletor de geoprópolis. Semanalmente a geoprópolis produzida foi coletada e o coletor substituído. Foi verificada a influência dos parâmetros climáticos sobre o potencial produtivo da geoprópolis de *M. scutellaris*. A produção da geoprópolis por *M. scutellaris*, no período estudado, está correlacionada com as variáveis radiação, vento direção e vento rajada. Na segunda etapa foi realizada a avaliação quanto à quantificação microbiológica frente a presença de microrganismos contaminantes, de acordo com as estações do ano, utilizando 24 amostras da geoprópolis colhidas no período de um ano. Para tanto, determinou-se: microrganismos aeróbios mesófilos, microrganismos aeróbios psicrotróficos, bolores e leveduras, *Clostridium* sulfito redutores, coliformes totais, *Escherichia coli*, presença e ausência para *Salmonella* sp. e *Staphylococcus* coagulase positiva. A geoprópolis apresentou carga microbiológica média máxima de  $10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>, no entanto, ausência para *Clostridium* sulfito redutores e *Salmonella* sp. Na terceira etapa foi avaliada a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da geoprópolis da *M. scutellaris*, frente à bactéria Gram-positiva e Gram-negativa. Foi determinada concentração mínima inibitória (CMI) e concentração bactericida mínima (CBM), utilizando o método de microdiluição. O extrato hidroalcoólico da geoprópolis, apresentou atividade antimicrobiana frente ao crescimento de microrganismo *S. aureus* e *Salmonella* Enteritidis.

**Palavras-chave:** Produção da geoprópolis, quantificação microbiológica, atividade antimicrobiana

# BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PROPOLIS BEE SOCIAL STINGLESS URUÇU (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) FROM THE BAY IGUAPE-BA

**Autor:** Renata de Lima

**Orientador:** Profa. Dra. Geni da Silva Sodré

**Coorientador:** Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

**ABSTRACT:** This study had since objective valued the production of geoprópolis of *Melipona scutellaris* at the Bail of the Iguape, Bahia as well as his microbiological composition and his antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Enteritidis. For this reason the work was divided into three stages. In the first step were initially installed two Meliponários in Bay of Iguape, using ten colonies of *M. scutellaris*. During twelve months, the bees were stimulated to produce geoprópolis using the method collector device geoprópolis. Weekly to geoprópolis produced was collected and replaced. The influence of climatic parameters on the productive potential of geoprópolis *M. scutellaris* was verified. The production of geoprópolis by *M. scutellaris* during the study period, is correlated with the variable radiation, wind direction and wind gust. In the second stage evaluation was performed on the microbiological quantification front the presence of contaminating microorganisms, according to the seasons, using 24 samples of geoprópolis collected within one year. Therefore, it was determined: aerobic mesophilic, psychrotrophic aerobic bacteria, molds and yeasts, *Clostridium* sulphite reducing, total coliforms, *Escherichia coli*, presence and absence for *Salmonella* sp. and coagulase positive *Staphylococcus*. Geoprópolis has an average maximum microbial count of  $10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>, however, absence sulphite reducing *Clostridium* and *Salmonella* sp. In the third step we evaluated the antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of geoprópolis *M. scutellaris* front of Gram-positive and Gram-negative bacteria. Was determined by minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using the microdilution method. The hydroalcoholic extract of geoprópolis, presented antimicrobial activity against the growth of microorganism *S. aureus* and *Salmonella* Enteritidis.

**Key words:** Production of geoprópolis, quantificação microbiological, antimicrobial activity

## INTRODUÇÃO

A Meliponicultura é uma atividade antiga, exercida há muitos séculos, com relatos dessa prática desde os primórdios das civilizações antigas, no Egito Antigo (PALAZUELOS BALLIVIÁN, 2008). A criação de meliponíneos desenvolvida pelos índios, aqui no Brasil, ao longo do tempo vem sendo praticada de forma tradicional por pequenos e médios produtores, principalmente por aqueles que usavam mão de obra familiar nas atividades agropecuárias, sendo considerada uma atividade econômica complementar (COLETTTO-SILVA, 2005).

Apesar do desenvolvimento e do crescimento desta atividade, a Meliponicultura no Brasil ainda é carente de outras práticas tecnológicas que aprimorem o processo de extração dos produtos, tornando-os mais valorativos, e, principalmente, pela ausência de uma legislação condizente com as suas necessidades (COLETTTO-SILVA, 2005; SILVA e PAZ, 2012). Diferentemente do que ocorre no caso da Apicultura, a Meliponicultura sofre de um vazio legal, particularmente na parte sanitária, o que dificulta a ampliação do mercado dos seus produtos, especialmente no que se refere à exportação e comercialização (LOPES et al., 2005).

As abelhas da subfamília Meliponinae (Hymenoptera: Apidae) são conhecidas como “abelhas sociais sem ferrão”, pelo fato de possuírem o ferrão atrofiado, sendo, portanto, incapazes de ferocar. Taxonomicamente são agrupadas na superfamília Apoidea, que dispõe de algumas famílias, incluindo a família Apidae. Essa família tem a subfamília Apinae, que está dividida em diversas tribos, as mais conhecidas são: Euglossini (conhecidas como abelhas das orquídeas), Bombini (mamangavas grandes e peludas), Apini (abelhas melíferas, *Apis mellifera*), Meliponini (abelhas popularmente conhecidas como abelhas sociais sem ferrão) que consolida vários gêneros incluindo o gênero *Melipona* (MICHENER, 2000).

Segundo Nogueira-Neto (1997), Gonzaga (2004), Carvalho et al. (2005) e Kerr et al. (2005) existem por volta de 300 espécies de abelha social sem ferrão, para Witter e Blochtein (2009) são aproximadamente 400 e para Ximenes (2011) são aproximadamente 380. É certo que com os avanços em investigações das

abelhas sociais sem ferrão, progressivamente novas espécies ou subespécies serão reclassificadas em espécies distintas.

As abelhas sociais sem ferrão ocupam grande parte das regiões de clima tropical no planeta, especialmente a América do Sul (KERR et al., 1996). Além do mel, essas abelhas podem fornecer, para exploração comercial, o pólen, a cera e a geoprópolis (DUTRA, 2006; SANTOS, 2010).

A geoprópolis proveniente da espécie *M. scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) conhecida como abelha urucu é encontrada no nordeste do Brasil e produz um tipo diferente de própolis composto pela mistura de resina, cera e terra (BARTH, 2006). Sendo considerada uma resina vegetal não tóxica coletada por abelhas em diferentes fontes vegetais, cuja capacidade é essencial para garantir a proteção da colmeia (SALATINO et al., 2011).

A coloração presente na própolis depende de seus materiais que o constituem e é utilizada para vedar frestas, embalsamar insetos mortos bem como proteger a colmeia contra ataques de microrganismos (GHISALBERTI, 1979). Em geral, as amostras da geoprópolis apresentam-se como componentes distintos, com grânulos de consistência heterogênea e inodoros, coloração marrom escura e sabor amargo (CUNHA et al., 2009).

A geoprópolis é produzida naturalmente pelas abelhas sociais sem ferrão e segundo Santos et al. (2009) as funções que ela exerce nas colônias dessas abelhas são mais amplas do que a própolis nas colônias de abelhas *A. mellifera*, servindo para a construção de estruturas externas (tubos de entrada) e internas (discos de cria, lamelas de invólucro e potes de alimento) das colônias de Melíponas e para defesa contra inimigos.

O processo de produção de geoprópolis é realizado pelos meliponicultores de forma empírica, sendo coletada por meio de raspagem de partes da colmeia como tampa e frestas. Além da baixa produtividade, a geoprópolis coletada por esse meio é de baixa qualidade e apresenta grandes quantidades de impurezas, o que limita sua comercialização.

Para que as colônias produzam em quantidade e qualidade é preciso que sejam estabelecidas técnicas para os meliponicultores que estimulem a produção da geoprópolis pelas abelhas sociais sem ferrão. Com isso, o método de coleta utilizado é de grande importância na produção da geoprópolis e tem como objetivo não contaminar o mel. Pesquisas vêm sendo realizadas para determinar qual o

melhor método de coleta e tipo de coletor para se ter uma produção da geoprópolis de abelhas sociais sem ferrão (ALVES et al., 2011; SOUZA et al., 2011).

Para a abelha uruçú não é usado nenhum tipo de coletor de geoprópolis pelos meliponicultores. Essa pesquisa é inédita e de extrema importância para a conservação dessa espécie nativa e para a melhoria da produtividade da geoprópolis. A geoprópolis é mais um produto que pode ser explorado para fins comerciais gerando mais renda para os meliponicultores.

Estudos voltados aos compostos bioativos da própolis e geoprópolis produzidas por diferentes espécies de abelhas têm proporcionado uma maior procura pelo produto *in natura*, alcançando resultados positivos, no entanto, ainda são escassos os estudos voltados à avaliação microbiológica da geoprópolis.

Além de análises químicas e físicas é de suma importância a realização de ensaios microbiológicos nas amostras da geoprópolis. As análises microbiológicas realizadas no presente estudo, foram baseadas no regulamento técnico da qualidade microbiológica para própolis, onde é recomendando apenas que sejam seguidas as práticas de higiene, considerando que é necessário instituir medidas que normatizem a industrialização de produtos de origem animal, garantindo condições de igualdade entre os produtores e assegurando a transparência na produção, processamento e comercialização (BRASIL, 2001).

Durante a coleta do material biológico a contaminação pode estar associada à veiculação de microrganismos pela manipulação inadequada do produto da colmeia até mesmo no beneficiamento por meio da separação de contaminantes macroscópicos (folhas, madeiras, insetos, etc.), ou pelas próprias abelhas. Além de más condições de armazenamento (temperatura, umidade), ou até mesmo por ser um produto composto por barro, prejudicando assim o valor comercial do produto (MATSUDA, 2002).

Os microrganismos encontrados em própolis e geoprópolis estão relatados na literatura, tais como: coliformes totais e termotolerantes (SOUZA et al., 2011), coliformes totais, microrganismos aeróbios mesófilos, bolores e leveduras (MATSUDA, 2002) e *Bacillus* (SANTOS, 2007).

A importância destes estudos é reforçada pela atividade antimicrobiana da geoprópolis, que é pouco descrita na literatura, entretanto, nos últimos anos tem crescido o número de pesquisas sobre sua atividade contra microrganismos patogênicos ao ser humano.

São relatadas atividades antimicrobianas da geoprópolis contra *Staphylococcus aureus* (KUJUMGIEV et al., 1999; VELIKOVA et al., 2000; CUNHA et al., 2013) *Etreptococcus* orais (DUALIBE et al., 2007) *Streptococcus mutans* (LIBÉRIO et al., 2011; CUNHA et al., 2013) *Candida Albicans* e vírus influenza (KUJUMGIEV et al., 1999).

A composição da geoprópolis é intensamente influenciada pela: fauna, flora, clima, temperatura, época da colheita entre outros. A flora da Baía do Iguape, BA é rica em diversidade de espécies de plantas podendo gerar uma geoprópolis com composição diferenciada com atividade biológica que pode ser usada no controle de microrganismos patogênicos pela medicina farmacológica.

Com relação à variação sazonal, o declínio em alguns componentes biologicamente ativos pode ser acompanhado pela expansão de outros (NUNES et al., 2009). Os estudos realizados com variações sazonais são fundamentais para a caracterização do produto final de um determinado local, uma vez que parâmetros climáticos variam em função da região onde o produto natural é obtido (SIMOES-AMBROSIO et al., 2010). A composição química da geoprópolis é variável, dependendo da biodiversidade da região visitada pelas abelhas, podendo possuir compostos da classe dos flavonoides, diterpenos, ácidos graxos e benzofenonas polipreniladas (SALATINO et al., 2005; DUARTE et al., 2006; CASTRO et al., 2009).

Nesse sentido o objetivo desse trabalho foi avaliar a produção da geoprópolis de *Melipona scutellaris* na Baía do Iguape-Bahia, sua composição microbiológica e atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R. M. O. et al. Avaliação de diferentes métodos de coleta de geoprópolis em colônias de mandaçaia (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier). In: Seminário Brasileiro de Própolis e Pólen - 25 a 28 de outubro de 2011, Ilhéus – Bahia. **Magistra**, v. 23, número especial, 2011.

BARTH, O. M. Palynological analysis of geoprópolis samples obtained from six species of Meliponinae in the Campus of the Universidade de Ribeirão Preto, USP, Brazil. **Apiacta**, v.41, p. 71-85, 2006.

BRASIL. Ministério de Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os 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] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 23 jan 2001. Seção 1, p. 18-23.

CARVALHO, C. A. L. et al. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. Cruz das Almas, BA: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA, p. 32, 2005.

CASTRO, M. L. et al. Identification of a bioactive compound isolated from Brazilian própolis type 6. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 5332–5335, 2009.

COLETTTO-SILVA, A. Implantação da meliponicultura e etnobiologia de abelhas sem ferrão em três comunidades indígenas no estado do Amazonas. **Tese de Doutorado**. Curso de Pós-Graduação em Entomologia, Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), 2005.

CUNHA, M. G. et al. Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geoprópolis. **BMC Medicina Complementar e Alternativa**. v.13, p. 23, 2013.

CUNHA, M. S. et al. Padronização de extrativos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tíuba). **Caderno de Pesquisa**. UFMA, v. 16, p. 31-38, 2009.

DUALIBE, S. A. C.; GONÇALVES, A. G.; AHID, F.J.M. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* in vivo. **Journal of Applied Oral Science**, v. 15, n.5, p. 420-423, 2007.

DUARTE, S. et al. The influence of a novel própolis on mutans streptococci biofilms and caries development in rats. **Archives of Oral Biology**, v. 51, p.15-22, 2006.

DUTRA, R. P. **Características físico-químicas de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tíuba) produzido no Estado do Maranhão**. 2006, 67 f.:il. Dissertação (mestrado em saúde e Ambiente) Universidade Federal do Maranhão, 2006.

GHISALBERTI, E.L. Própolis; A review. **Bee Word**, v.60, p. 59-84, 1979.

GONZAGA, S. R. **Criação de abelhas sem ferrão: meliponídeos**. Cuiabá, MT: SEBRAE, p. 174, 2004.

KERR, W.K.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. **A Abelha uruçú: biologia, manejo e conservação**. Paracatu: Acangaú, p.143, 1996.

KERR, W.E. et al. Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Mensagem Doce**, n.80, 2005.

KUJUMGIEV, A. et al. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, p. 235-240, 1999.

LIBÉRIO, S.A. et al. Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, p.108, 2011.

LOPES, M.; FERREIRA, J. B.; SANTOS, G. Abelhas sem-ferrão: a biodiversidade invisível. **Agriculturas** v. 2: p. 7-9, 2005.

MATSUDA, A. H. de - Aplicação da técnica de irradiação gama para preservação de própolis. 2002. 86 f. **Dissertação** (mestrado) em Ciência na área de Tecnologia Nuclear-Aplicações- Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, 2002.

MICHENER, C. D. **The bees of the world**. Baltimore and London, The John Hopkins. University Press. Cambridge, Massachusetts, p. 913, 2000.

NOGUEIRA NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo, SP: Nogueirapis, p. 445, 1997.

NUNES, L. C. C. et al. Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, p. 524- 529, 2009.

PALAZUELOS BALLIVIAN, J. M. P. **Abelhas nativas sem ferrão - Mg**. São Leopoldo, Oikos, 2008.

SALATINO, A. et al. Propolis research and the chemistry of plant products. **Natural Product Reports**, v.28, p. 925-936, 2011.

SALATINO, A. et al. Origin and chemical variation of Brazilian própolis. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, p. 33-38, 2005.

SANTOS, A. L. de - Identificação da flora microbiana em colmeias de Meliponina. 2007. 46 f. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, 2007.

SANTOS, C. G. et al. Caracterização sazonal de acúmulos isolados de própolis em colônias de *Plebeia emerina* (Hymenoptera: Apidae) no sul do Brasil. **Lheringia, Série Zoologia**, v. 99 n. 2 p. 200- 203, 2009.

SANTOS, J. R. **Bioprospecção de geoprópolis de *Melipona fasciculata* SMITH.** 2010. 79p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade Federal do Maranhão, São Luís. 2010.

SILVA, W. P.; PAZ, J. R. L. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on line**, v.10, p.146-152, 2012.

SIMÕES-AMBRÓSIO, L.M.C. et al. The role of seasonality on the inhibitory effect of Brazilian green própolis on the oxidative metabolism of neutrophils. **Fitoterapia**, v. 81, p.1102–1108, 2010.

SOUZA, L. S. et al. Produção de geoprópolis sob diferentes métodos de coletas em colônias de *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae). **Magistra** - Cruz das Almas-BA, v. 23, 2011.

VELIKOVA, M. et al. **Chemical composition and biological activity of própolis from Brazilian meliponinae.** Z Naturforsch C, 55c, p. 785-789, 2000.

WITTER, S.; BLOCHTEIN, B. Espécie de abelhas sem ferrão de ocorrência no Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS: **Versátil Artes Gráficas**, 2009.

XIMENES, L. J. F. Manejo Racional de Abelhas Africanizadas e de Meliponíneos no Nordeste do Brasil. Fortaleza, CE: **Banco do Nordeste do Brasil**, p. 386, 2011.

## CAPÍTULO 1

**INFLUÊNCIA DE PARÂMETROS CLIMÁTICOS NA PRODUÇÃO DA  
GEOPRÓPOLIS DE *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 NA BAÍA DO IGUAPE-  
BA**

## INFLUÊNCIA DE PARÂMETROS CLIMÁTICOS NA PRODUÇÃO DA GEOPRÓPOLIS DE *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 NA BAÍA DO IGUAPE-BA

**RESUMO:** A produção da geoprópolis depende de vários fatores podendo variar em qualidade e quantidade em função da espécie de abelha que a produziu, da origem botânica, da fitogeografia, do método de produção, das condições climáticas da região durante o seu processo de produção, dentre outros. Considerando que características biológicas da espécie de abelha podem determinar diferenças na sua produtividade, procurou-se encontrar uma explicação correlacionando os parâmetros climáticos (ponto de orvalho, precipitação, pressão atmosférica, pressão máxima, pressão mínima, radiação, vento velocidade, vento direção, vento rajada, temperatura, temperatura máxima, temperatura mínima, temperatura orvalho máxima, temperatura orvalho mínima, umidade máxima, umidade mínima, umidade relativa do ar) com os dados de produção da geoprópolis. O objetivo desse trabalho foi investigar a influência dos parâmetros climáticos sobre o potencial produtivo da geoprópolis de *Melipona. scutellaris* produzida na Baía do Iguape, Bahia. A pesquisa foi desenvolvida em dois Meliponários (M1 e M2), totalizando 10 colônias de *M. scutellaris*, sendo utilizadas cinco colônias por Meliponário. Com o intuito de induzir a produção da geoprópolis foi utilizado o dispositivo coletor de geoprópolis, o qual semanalmente foi retirado e substituído por um novo coletor de geoprópolis. A partir do material coletado foi avaliada a produção semanal da geoprópolis, por meio do peso e em seguida, armazenado em refrigeração. As cinco colônias em um período de doze meses produziram estatisticamente juntas um total de 1.494 g para M1 e 1.405 g para M2, apresentando média anual de 124,27 g para M1 e 117,10 g para M2. A correlação entre a produção da geoprópolis e os parâmetros climáticos foram: a) radiação ( $r^2 = 0,6368$  e  $P = 0,0260$ ), b) vento direção ( $r^2 = - 0,7698$  e  $P = 0,0034$ ), c) vento rajada ( $r^2 = 0,5135$  e  $P = 0,0877$ ). Conclui-se que a produção da geoprópolis por *M. scutellaris*, teve uma boa aceitação ao dispositivo coletor de geoprópolis, afirmando o potencial de produção por parte dessas abelhas.

**Palavras-chave:** Meliponicultura, sazonalidade, coletor de geoprópolis

**INFLUENCE OF CLIMATIC PARAMETERS IN THE PRODUCTION OF  
GEOPRÓPOLIS OF *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 IN THE BAY OF THE  
IGUAPE-BA**

**ABSTRACT:** The production of geoprópolis depends on several factors and can vary in quality and quantity depending on the species of bee that produced it, the botanical origin, phytogeography, the method of production, the climatic conditions of the region in their production process, among others. Whereas biological characteristics of bee species may lead to differences in productivity, we tried to find an explanation correlating the climatic parameters (dew point, precipitation, atmospheric pressure, maximum pressure, minimum pressure, radiation, wind speed, wind direction, wind wind, temperature, maximum temperature, minimum temperature, maximum temperature dew, dew minimum temperature, maximum moisture, minimum moisture, relative humidity) with the geoprópolis production data. The objective of this study was to investigate the influence of climatic parameters on the productive potential of geoprópolis of *Melipona. scutellaris* produced in Iguape Bay, Bahia. The research was conducted in two Meliponários (M1 and M2), totaling 10 colonies of *M. scutellaris* being used five colonies per Meliponary. In order to induce the production of geoprópolis was used pickup device geoprópolis weekly, which was removed and replaced by a new geoprópolis collector. The material collected from the weekly production geoprópolis was performed by means of the weight and then stored under refrigeration conditions. The five colonies in a twelve-month period produced statistically together a total of 1,494 g to 1,405 g M1 and M2, with an annual average of 124.27 g to 117.10 g M1 and M2. The correlation between the production of geoprópolis and climatic parameters were: a) radiation ( $r^2 = 0.6368$  and  $P = 0.0260$ ), b) the wind direction ( $R^2 = - 0.7698$  and  $P = 0.0034$ ), c) wind gust ( $r^2 = 0.5135$  and  $P = 0.0877$ ). It is concluded that the production of geoprópolis by *M. scutellaris*, had a good acceptance to geoprópolis collection device, stating the production potential by these bees.

**Key words:** Meliponiculture, seasonality, collector of geoprópolis

## INTRODUÇÃO

A Meliponicultura, que consiste na criação de abelhas sociais sem ferrão, se tornou uma atividade significativamente importante em diversas regiões do país. O investimento em pesquisa e melhoramento das técnicas de manejo, vem favorecendo a difusão do conhecimento e o interesse para polinização agrícola, especialmente nas regiões norte e nordeste do Brasil, contribuindo para o desenvolvimento da criação racional dessa atividade (CAMPOS, 2003).

As abelhas sociais sem ferrão pertencem ao reino Animalia Filo Arthropoda; Classe Insecta; Ordem Hymenoptera; Subordem Aprocrita; Superfamília Apoidea; Família Apidae; Subfamília Meliponinae; Tribo Meliponini, (PIANARO, 2007). São popularmente conhecidas como “abelhas sociais sem ferrão”, pelo fato de possuírem o ferrão atrofiado (MICHENER, 2000).

A abelha social sem ferrão *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 também conhecida como uruçú é encontrada no nordeste do Brasil e produz uma variedade de própolis popularmente conhecido como geoprópolis. Geoprópolis consiste da mistura de resina, cera e solo (BARTH, 2006). Dessa forma, a composição deste produto pode variar de acordo com as fontes vegetais utilizadas pelas abelhas, bem como época do ano, ocorrendo variações principalmente nos seus constituintes químicos e atividades farmacológicas. É um produto natural utilizado para vedar frestas bem como proteger a colmeia (SIQUEIRA et al., 2014).

A coloração da geoprópolis depende do material que a constitui, ou seja, das fontes resiníferas e do solo coletadas pelas abelhas, as quais diferem dependendo da região em que as colônias foram instaladas (AGUERO et al., 2010; SIQUEIRA et al., 2014).

De modo geral, as amostras da geoprópolis apresentam-se como fragmentos rígidos e com diferentes tamanhos, com grânulos de consistência heterogênea e inodoro, coloração marrom escura e sabor amargo (CUNHA et al., 2009).

Cordeiro (2014) em estudo com capacidade produtiva da geoprópolis proveniente de três espécies de *Melipona*, constatou que a espécie que se mostrou mais produtiva foi a *Melipona flavolineata*, por ser uma espécie nativa da região da Amazônia Oriental, adaptada as condições climáticas.

Para Dutra (2006) geoprópolis formada em regiões de ecossistemas heterogêneos, consistem em uma associação da origem botânica aos fatores climáticos da região implicando na variação existente destes constituintes químicos no produto final. Portanto, a caracterização e a padronização dos compostos químicos da geoprópolis, por meio das condições ambientais em que são produzidos são fundamentais para melhorar a qualidade desse produto.

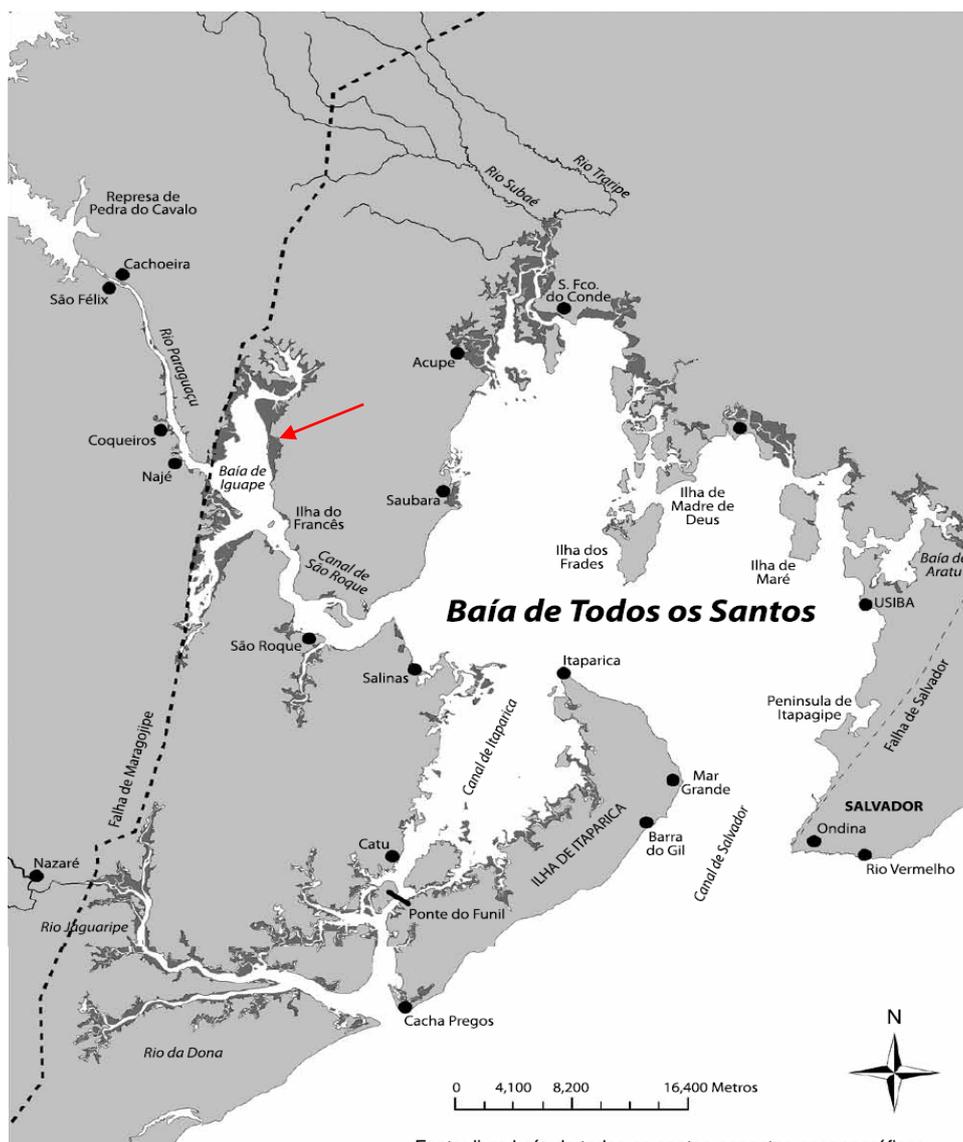
Segundo Souza (2011) a sazonalidade possui influência na atividade de produção da geoprópolis independentemente do método de coleta utilizado. Em estudo desenvolvido pelo referido autor, a produção alcançou valores satisfatórios, entretanto, ele menciona que a produção da geoprópolis pode ser elevada, estimulada por programas de melhoramento genético de abelhas rainhas direcionadas à produção desse produto.

Dessa maneira, estudos que levem em consideração as condições edafoclimáticas para a potencialização da produção são fundamentais para produção racional, rentável e de qualidade para este produto. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi investigar a influência dos parâmetros climáticos sobre o potencial produtivo da geoprópolis de *M. scutellaris* produzida na Baía do Iguape, Bahia.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local de coleta**

O estudo foi desenvolvido em dois Meliponários (M1 e M2) instalados nas extremidades de Apiários de agricultura familiar, situado na Baía do Iguape (BI) pertencente à Baía de Todos os Santos (BTS) situada cerca de 100 km a leste de Salvador (Figura 1).



Fonte: livro baía de todos os santos-aspectos oceanográficos

Figura 1: Localização geográfica da Baía do Iguape, pertencente a Baía de Todos os Santos-BA.

A Baía do Iguape abrange uma área que se estende sobre águas interiores, cuja principal origem é o Rio Paraguaçu. Se estende sobre 8.117,53 hectares, sendo 2.831,24 de manguezais e 5.286,29 de águas internas brasileiras (PROST, 2012).

A Baía do Iguape, um apêndice da Baía de Todos os Santos (CARVALHO, 2000), no ponto central a paisagem é marcada por colinas e planícies fluviomarinhas e pela presença de mangues.

A cobertura vegetal, na área da Baía do Iguape, contribuí para o equilíbrio de um sistema natural, principalmente por ter uma diversidade paisagística, sendo

composta por vegetação litorânea, de mangue e vegetação da zona da mata (SANTANA, 2008).

### **Produção e Coleta**

As colônias de *M. scutellaris* utilizadas no desenvolvimento do estudo foram provenientes do Núcleo de Estudos dos Insetos (INSECTA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Foram realizados ensaios prévios de avaliações das colônias visando a produção de geoprópolis, por meio do dispositivo coletor de geoprópolis, logo após as colônias foram levadas a campo.

Foram instalados dois Meliponários na Baía do Iguape-BA, distantes entre si cerca de 1 km em linha reta, sendo um deles em local sombreado e outro em local com insolação indireta. Cada Meliponário foi constituído com cinco colônias de *M. scutellaris*. As colônias foram alojadas em caixas Modelo INPA, onde foram mantidas durante 30 dias no Meliponários para adaptação da região e periodicamente realizadas inspeções sobre as condições de desenvolvimento, por meio de revisões e avaliações das colônias.

Durante os meses de agosto de 2013 a julho de 2014, as abelhas foram estimuladas a produzir geoprópolis utilizando o método de coleta adaptado do coletor do tipo CPI® (Coletor de Própolis Inteligente), desenvolvido pelo apicultor Sr. Adomar Jesus de Carvalho. O método utilizado para indução da geoprópolis foi por meio de uma abertura frontal no centro das melgueiras, com dimensões de 11,5 x 2 cm, onde as peças laterais foram de 10 x 2 cm na parte interna e 24,5 x 1,0 cm na parte externa com profundidade da barra superior e inferior de 2,0 cm, sendo este um dispositivo móvel (Figuras 2 e 3).



Figura 2 - **A.** Detalhe da colônia com dispositivo coletor de geoprópolis. **B.** Esquema para montagem da régua coletora.



Figura 3 - **A à C.** Melgueira adaptada com fresta frontal para encaixe da régua coletora de geoprópolis.

Foi utilizado o dispositivo coletor de geoprópolis (DCG) (Figura 3), sendo retirado e substituído semanalmente. Utilizou-se formão para facilitar a retirada da régua coletora de geoprópolis e sacos plásticos atóxicos para acondicionar as amostras de forma higienicamente correta. Os materiais coletados foram etiquetados e encaminhados ao Núcleo de Estudos dos Insetos (INSECTA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

A coleta de geoprópolis foi realizada semanalmente totalizando 96 amostras as quais constituíram-se em um *blande* mensal, compondo 12 amostras por Meliponário. A partir do material coletado foi avaliada a produção semanal da geoprópolis, onde era pesado em balança analítica e armazenado em freezer vertical -20°C no Laboratório do Grupo de Pesquisa INSECTA.

### **Parâmetros climáticos**

Os parâmetros climático (ponto de orvalho, precipitação, pressão atmosférica, pressão máxima, pressão mínima, radiação, vento velocidade, vento direção, vento rajada, temperatura, temperatura máxima, temperatura mínima, temperatura orvalho máxima, temperatura orvalho mínima, umidade máxima, umidade mínima, umidade relativa do ar) foram obtidos na Estação Meteorológica da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas – BA e do Instituto Nacional de Meteorologia (<http://www.inmet.gov.br>).

### **Análises estatísticas**

Os dados de produção da geoprópolis foram submetidos a análise de variância (FERREIRA, 2000). Para os dados encontrados foram submetidos a correlação de Pearson ( $r$ ) da produção da geoprópolis com as variáveis climáticas (ponto de orvalho, precipitação, pressão atmosférica, pressão máxima, pressão mínima, radiação, vento, vento direção, vento rajada, temperatura, temperatura máxima, temperatura mínima, temperatura orvalho máxima, temperatura orvalho mínima, umidade máxima, umidade mínima, umidade relativa do ar), utilizando-se o procedimento “Proc corr” e a regressão das variáveis climáticas com a produção utilizando o procedimento “Stepwise do pacote estatístico (SAS, 2008).

## RESULTADOS

### Produção da Geoprópolis

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que os Meliponários em um período de 12 meses produziram estatisticamente um total de 1.494 g para M1 e de 1.405 g para M2, apresentando a média anual de 124,27g para M1 e 117,10 g para M2 (Tabela 1). De acordo com os resultados obtidos, constatou-se a maior produção nos meses de agosto, setembro, outubro, novembro, dezembro e fevereiro para (M1), enquanto para M2 a maior produção foi constatada no mês de novembro, seguido pelos meses de agosto, outubro, janeiro e fevereiro.

A diferença observada da produção média da geoprópolis pelas colônias M1 instaladas em local sombreado e M2 instaladas em local com insolação indireta, provavelmente, está relacionada com o microclima dos dois locais onde os meliponários foram montados, assim apresentando uma maior umidade e temperaturas mais amenas.

No período de março a julho houve baixa produção da geoprópolis, devido algumas colônias ficarem com o coletor fechado sem a presença de frestas. Essa prática fez parte do manejo durante período sem ocorrência de produção da geoprópolis, nesse período os enxames se apresentavam com número reduzido de abelhas. Neste contexto colônias fracas são, geralmente, consequência da falta de alimento disponível no campo, sendo alvo fácil de pragas e doenças. Para evitar esses problemas foi realizada intervenção vedando alguns dispositivos, para que as colônias se recuperassem.

Com relação a produção mensal da geoprópolis, verificou-se que no mês de setembro destacou-se o M1 com produção de 249,68 g, enquanto para M2 destacou-se o mês de novembro com produção de 257,53 g.

Tabela 1. Média de produção mensal da geoprópolis (em gramas) de *Melipona scutellaris*, no período de agosto de 2013 a julho de 2014 na Baía do Iguape – BA.

<b>Mês</b>	<b>Produção (g)</b>	
	<b>Meliponário 1</b>	<b>Meliponário 2</b>
<b>Agosto</b>	157,28 Aa	136,32 Ab
<b>Setembro</b>	249,68 Aa	102,80 Bb
<b>Outubro</b>	189,77 Aa	141,18 Ab
<b>Novembro</b>	204,36 Aa	257,53 Aa
<b>Dezembro</b>	239,34 Aa	145,13 Bb
<b>Janeiro</b>	86,64 Bb	158,19 Ab
<b>Fevereiro</b>	195,85 Aa	143,84 Ab
<b>Março</b>	64,66 Ab	76,47 Ac
<b>Abril</b>	49,79 Ab	62,48 Ac
<b>Mai</b>	22,50 Ab	69,61 Ac
<b>Junho</b>	20,64 Ab	61,16 Ac
<b>Julho</b>	13,71 Ab	50,44 Ac
Média anual	124,27	117,10
CV (%)	42,86	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### **Parâmetros climáticos**

Após a análise de produção da geoprópolis, constatou-se que não houve diferença significativa entre M1 e M2. Então foi feita uma média dos dados de produção, onde o mesmo foi submetido a análise de correlação com as variáveis climáticas, constatando-se correlação. As correlações entre a produção da geoprópolis e as variáveis climáticas estão apresentadas nas Tabelas 2A e 2B.

Tabela 2B. Coeficiente de Pearson ( $r^2$ ) com suas respectivas probabilidade (P) entre as variáveis independentes (ponto de orvalho, precipitação, pressão atmosférica, pressão máxima, pressão mínima, radiação, vento, vento direção) e a variável dependente amostra da geoprópolis, no período de agosto de 2013 a julho de 2014 na Baía do Iguape – BA.

Variáveis	Ponto de orvalho	Precipitação	Pressão atmosférica	Pressão máxima	Pressão mínima	Radiação	Vento	Vento direção
Geoprópolis	$r^2$ 0,2431 P 0,4465	$r^2$ -0,3892 P 0,2112	$r^2$ -0,4299 P 0,1631	$r^2$ -0,4217 P 0,1721	$r^2$ -0,4371 P 0,1554	$r^2$ 0,6368 P 0,0260	$r^2$ 0,4525 P 0,1396	$r^2$ -0,7698 P 0,0034

Tabela 2 A. Coeficiente de Pearson ( $r^2$ ) com suas respectivas probabilidade (P) entre as variáveis independentes (vento rajada, temperatura, temperatura máxima, temperatura mínima, temperatura orvalho máxima, temperatura orvalho mínima, umidade máxima, umidade mínima, umidade relativa do ar) e a variável dependente amostra da geoprópolis, no período de agosto de 2013 a julho de 2014 na Baía do Iguape – BA.

Variáveis	Vento rajada	Temperatura	Temp. máxima	Temp. mínima	Temp. orvalho máxima	Temp. orvalho mínima	Umidade máxima	Umidade mínima	Umidade relativa do ar
Geoprópolis	$r^2$ 0,5135 P 0,0877	$r^2$ 0,2360 P 0,4602	$r^2$ 0,2625 P 0,4098	$r^2$ 0,1974 P 0,5386	$r^2$ 0,2639 P 0,4072	$r^2$ 0,1743 P 0,5879	$r^2$ 0,2868 P 0,3661	$r^2$ 0,2104 P 0,5117	$r^2$ 0,2398 P 0,4528

A média anual de ponto de orvalho registrada foi de 18,6 °C, para precipitação foi de 97,9 mm, pressão atmosférica 989,8 hPa, pressão máxima 990,1 hPa, pressão mínima 989,6 hPa, radiação 1240,2 KJ/m<sup>2</sup>, vento 2,5 m/s, vento direção 141,3 graus, vento rajada 5,3 m/s, temperatura 23,7 °C, temperatura máxima 24,2 °C, temperatura mínima 23,2 °C, temperatura orvalho máxima 19,2 °C, temperatura orvalho mínima 18,8 °C, umidade máxima 78,2%, umidade mínima 74,3%, umidade relativa do ar 76,1%.

Nas tabelas 3A e 3B demonstram as únicas correlações entre a produção da geoprópolis e as variáveis climáticas por meio do teste de correlação foram: a) radiação ( $r^2 = 0,6368$  e  $P = 0,0260$ ), b) vento direção ( $r^2 = - 0,7698$  e  $P = 0,0034$ ), c) vento rajada ( $r^2 = 0,5135$  e  $P = 0,0877$ ).

Tabela 3A. Coeficiente de Pearson ( $r^2$ ) com suas respectivas probabilidades (P) entre as variáveis (ponto de orvalho, precipitação, pressão atmosférica, pressão máxima, pressão mínima, radiação, vento, vento direção) e a variável amostra da georópolis, no período de agosto de 2013 a julho de 2014 na Baía do Iguape – BA.

Variáveis	Georópolis	Ponto de orvalho	Precipitação	Pressão atmosférica	Pressão máxima	Pressão mínima	Radiação	Vento	Vento direção
Georópolis	1.0000	$r^2$ 0,2431 P 0,4465	$r^2$ -0,3892 P 0,2112	$r^2$ -0,4299 P 0,1631	$r^2$ -0,4217 P 0,1721	$r^2$ -0,4371 P 0,1554	$r^2$ 0,6368 P 0,0260	$r^2$ 0,4525 P 0,1396	$r^2$ -0,7698 P 0,0034
Radiação	$r^2$ 0,6368 P 0,0260	$r^2$ 0,3363 P 0,2851	$r^2$ -0,7075 P 0,0101	$r^2$ -0,6553 P 0,0207	$r^2$ -0,6549 P 0,0208	$r^2$ -0,6628 P 0,0188	$r^2$ 1.0000	$r^2$ 0,4592 P 0,1332	$r^2$ -0,6560 P 0,0205
Vento direção	$r^2$ -0,7698 P 0,0034	$r^2$ -0,1734 P 0,5899	$r^2$ 0,4635 P 0,1291	$r^2$ 0,5888 P 0,0440	$r^2$ 0,5798 P 0,0481	$r^2$ 0,5906 P 0,0432	$r^2$ -0,6560 P 0,0205	$r^2$ -0,2075 P 0,5176	$r^2$ 1.0000
Vento rajada	$r^2$ 0,5135 P 0,0877	$r^2$ -0,0920 P 0,7761	$r^2$ -0,1982 P 0,5368	$r^2$ -0,1184 P 0,7140	$r^2$ -0,1052 P 0,7441	$r^2$ -0,1257 P 0,6970	$r^2$ 0,5166 P 0,0855	$r^2$ 0,9281 P <.0001	$r^2$ -0,4099 P 0,1857

Tabela.3 B. Coeficiente de Pearson ( $r^2$ ) com suas respectivas probabilidades (P) entre as variáveis (vento rajada, temperatura máxima, temperatura mínima, temperatura orvalho máxima, temperatura orvalho mínima, umidade máxima, umidade mínima, umidade relativa do ar) e a variável amostra da georópolis, no período de agosto de 2013 a julho de 2014 na Baía do Iguape – BA.

Variáveis	Vento rajada	Temperatura	Temp. máxima	Temp. mínima	Temp. orvalho máxima	Temp. orvalho mínima	Umidade máxima	Umidade mínima	Umidade relativa do ar
Georópolis	$r^2$ 0,5135 P 0,0877	$r^2$ 0,2360 P 0,4602	$r^2$ 0,2625 P 0,4098	$r^2$ 0,1974 P 0,5386	$r^2$ 0,2639 P 0,4072	$r^2$ 0,1743 P 0,5879	$r^2$ 0,2868 P 0,3661	$r^2$ 0,2104 P 0,5117	$r^2$ 0,2398 P 0,4528
Radiação	$r^2$ 0,5166 P 0,0855	$r^2$ 0,6714 P 0,0168	$r^2$ 0,7043 P 0,0106	$r^2$ 0,6418 P 0,0245	$r^2$ 0,3690 P 0,2379	$r^2$ 0,2909 P 0,3590	$r^2$ 0,3088 P 0,3288	$r^2$ 0,2185 P 0,4950	$r^2$ 0,2560 P 0,4219
Vento direção	$r^2$ -0,4099 P 0,1857	$r^2$ -0,4959 P 0,1011	$r^2$ -0,5067 P 0,0928	$r^2$ -0,4728 P 0,1206	$r^2$ -0,1980 P 0,5373	$r^2$ -0,1296 P 0,6882	$r^2$ -0,1264 P 0,6954	$r^2$ -0,0421 P 0,8967	$r^2$ -0,1734 P 0,5899
Vento rajada	$r^2$ 1.0000	$r^2$ 0,1172 P 0,7168	$r^2$ 0,1509 P 0,6397	$r^2$ 0,0873 P 0,7873	$r^2$ -0,0815 P 0,8012	$r^2$ -0,1492 P 0,6435	$r^2$ -0,0935 P 0,7726	$r^2$ -0,1624 P 0,6142	$r^2$ -0,0920 P 0,7761

Na Tabela 4, descreve-se o modelo final selecionado para a variável geoprópolis. A análise de regressão múltipla mostrou que a variável vento direção teve ação sobre a produção da geoprópolis.

Tabela 4. Análise de regressão *Step Wise*, valor de F, probabilidade e R<sup>2</sup> com amostras da geoprópolis de *Melipona scutellaris* produzidas no período de agosto de 2013 a julho de 2014 na Baía do Iguape – BA.

Modelo final selecionado	Valor de F	Probabilidade	R <sup>2</sup> ajustado
Geoprópolis = 540.71527-2.97229	14,55	0,0034	0,5518
Vento direção			

## DISCUSSÃO

O método de coleta de geoprópolis popularmente utilizado por meio de raspagem das partes internas da colônia, tem como desvantagem apresentar contaminação natural comprometendo sua qualidade.

A abelha social sem ferrão estudada teve uma boa aceitação ao coletor de geoprópolis utilizado. Porém, foi observado no presente trabalho que nos meses com fortes chuvas as abelhas diminuíram o seu ritmo de produção de geoprópolis, não vedando por completo o coletor. Em época de escassez de alimento foi fornecido alimentação artificial, no entanto, pelo fato das colônias estarem dentro de um apiário, havia saque por parte das abelhas *Apis mellifera* enfraquecendo a *Melipona*. Portanto, foi necessário vedar a entrada da fresta do coletor com fita transparente evitando o ataque por outras abelhas.

Foi observada que a produção média da geoprópolis pelas colônias M1 instaladas em local sombreado destacaram-se com melhor produção comparada com M2 instaladas em local com insolação indireta, provavelmente, está relacionada com o microclima dos dois locais onde os meliponários foram montados, assim apresentando uma maior umidade e temperaturas mais amenas para M1.

Santana (2003) estudou a produção de própolis por *A. mellifera*, constatou que houve diferença significativa entre as colônias, independentemente do local onde elas estavam instaladas. Onde a capacidade de produção entre as colônias, localizadas na sombra foi de 58,7 g e no sol de 31,43 g, provavelmente está relacionada com o microclima, mostrando a influencia na propolização.

A utilização da geoprópolis na vida da colônia está relacionada com a proteção, sendo utilizada para fechar pequenas frestas e proteger da invasão de insetos e microrganismos, garantindo um ambiente protegido (GONZAGA, 2004). Levando em consideração que o dispositivo coletor de geoprópolis, deixa uma abertura frontal na colônia, tendo como objetivo garantir uma produção da geoprópolis regular, para aqueles que forem utilizar desse método para produzir geoprópolis. Tendo em vista que não foi observado neste método de coleta nenhum fato que vinhesse a causar um ambiente desprotegido prejudicando as colônias de *M. scutellaris*.

Souza (2011) ao comparar diversos métodos de coleta de geoprópolis de *M. scutellaris*, constatando a média mensal utilizando o método de coleta “palito entre a tela e a tampa” de 49,37 g e a produção total de 987,34 g. Inoue et al. (2007) utilizando o método de coleta tela plástica, comprovou uma média mensal de 24,2 g/colmeia.

Diante dos resultados obtidos neste estudo, por meio do dispositivo coletor de geoprópolis por *M. scutellaris*, comprovou-se boa aceitação do coletor de geoprópolis, afirmando o potencial de produção por parte dessas abelhas.

Para Souza (2011) independentemente do método de coleta utilizado, o efeito da sazonalidade exerceu influência sobre a atividade de produção da geoprópolis havendo maior produtividade na estação do inverno num total de 883,38 g.

Para o presente estudo a variação na produção está relacionada a radiação solar, vento direção e vento rajada, mostrando que a variável teve correlação sobre a produção da geoprópolis. Constatou-se que a variável radiação tem forte correlação positiva com as variáveis temperatura, temperatura máxima e temperatura mínima, no entanto, observou-se correlação negativa com as variáveis precipitação, pressão atmosférica, pressão máxima, pressão mínima, vento direção. A variável vento direção tem forte correlação positiva com as variáveis pressão atmosférica, pressão máxima e pressão mínima, no entanto, observou-se

correlação negativa com a variável radiação. A variável vento rajada tem forte correlação positiva com as variáveis vento velocidade, no entanto, não observou-se correlação negativa com as demais variáveis.

A chuva, intensidade luminosa, temperatura, umidade relativa, velocidade do vento, são fatores que podem influenciar a atividade de voo dessas abelhas (IWANA, 1977; HEARD e HENDRIKZ, 1993), essas variáveis climáticas podem modificar, modular ou até mesmo suprimir a atividade das abelhas. Dessa forma provavelmente poderá ocasionar alteração e até mesmo influenciar na atividade diárias de forrageamento por parte das abelhas *M. scutellaris*. Roubik (1989) constatou que o efeito do vento é provavelmente similar ao efeito da chuva, fazendo com que as abelhas selecionem recursos florais mais próximos às suas colmeias.

Além da variável vento direção, é inegável a influência direta ou indireta de outros fatores climáticos e ambientais, inclusive a posição das fontes vegetais, cuja capacidade é essencial para garantir a proteção da colmeia, certamente, as abelhas utilizam muitas informações na atividade de forrageamento.

Em estudos realizados por Filho (2013) com produção de própolis por *Frieseomelitta varia* utilizando coletor adaptado do coletor de *A. mellifera*, constatou-se uma boa adaptação, porém a sazonalidade afetou a produção de própolis diminuindo o ritmo até mesmo o não preenchimento por completo do coletor no decorrer do trabalho. A média de produção para *Frieseomelitta* constatada foi de 26,46 g ( $\pm 11,60$ ) no intervalo de 15 dias, para a *A. mellifera* tiveram média de produção de 6,08 g ( $\pm 9,72$ ) (FILHO, 2013).

Com relação aos resultados obtidos no presente trabalho da produção da geoprópolis por *M. scutellaris*, teve média de 62,14 g no intervalo de 15 dias para amostra M1 e de 58,55 g para amostra M2. Diante dos resultados da produção da geoprópolis por abelha *M. scutellaris*, comprovou-se o seu potencial utilizando o método de coleta do dispositivo coletor de geoprópolis.

Ao avaliar a produção média anual de própolis de *Scaptotrigona aff. postica* (abelha tubi) durante doze meses obteve  $1.359,5 \pm 80,8$  g/colmeia (SOUZA, 2013), resultado esse considerado mais baixo quando comparado com estudo realizado com abelhas *M. scutellaris* representado uma média anual de 1.494 g para amostra M1 e uma média de 1.405 g para amostra M2 da geoprópolis.

O forrageamento das abelhas é influenciado pelos fatores meteorológicos. Estudos revelam que cerca de 80% da energia metabolizada pelos músculos

durante o voo é perdida sob forma de calor (ROUBIK, 1989) e a temperatura corporal letal varia entre 45° e 50°C para as abelhas (HEINRICH, 1979). A temperatura da colônia variara de acordo com a temperatura ambiente (ROLDÃO, 2011), sendo que outros autores (ROUBIK e PERALTA, 1983; MOO-VALLE et al., 2000; HILÁRIO, 2005; LOLI, 2008) comentaram que essa temperatura não depende ou não estava relacionada com a temperatura ambiente. Acredita-se que as abelhas muda seu ritmo de forrageamento influenciadas pelas condições climáticas, principalmente pela temperatura (ROUBIK, 1989).

Com exceção da umidade relativa do ar, todos os outros parâmetros climáticos não tiveram ação sobre a produção da geoprópolis. A umidade relativa do ar mostrou-se um fator inversamente proporcional em relação a produção da geoprópolis, ou seja, enquanto uma variável tende a aumentar a outra tende a diminuir, semelhante ao que ocorreu nos experimentos de Souza (2013) para *Scaptotrigona aff. Postiça* no período de 12 meses de estudo, correlacionada com a umidade relativa do ar.

Entretanto, dados de produção representado nessa pesquisa foram satisfatórios, tendo em vista a escassez de estudos científicos mais aprofundados que complementam os valores referente a produção da geoprópolis, uma vez que as colônias utilizadas não foram selecionadas geneticamente quanto a produção da geoprópolis. Diante dos resultados obtidos é sugerido que seja ampliado o conhecimento básico sobre a produção da geoprópolis das abelhas sociais sem ferrão, para poder se ter uma melhor base literária.

## CONCLUSÃO

A abelha social sem ferrão (*Melipona scutellaris*) apresenta uma boa aceitação ao dispositivo coletor de geoprópolis, afirmando o potencial de produção por parte dessas abelhas. A produção da geoprópolis por *M. scutellaris*, tem correlações com a radiação, vento direção e vento rajada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUERO, M. B. et al. Argentinean própolis from *Zuccagnia punctata* Cav. (Caesalpinaeae) exudates: phytochemical characterization and antifungal activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 58, p. 194-201, 2010.

BARTH, O. M. Palynological analysis of geoprópolis samples obtained from six species of Meliponinae. In: the Campus of the Universidade de Ribeirão Preto, USP, Brazil. **Apiacta**, v.41, p. 71-85, 2006.

CAMPOS, L. A. O. A criação de abelhas indígenas sem ferrão. **Informe Técnico - Ano 12 - Número 67** - Conselho de Extensão - Universidade Federal de Viçosa, 2003.

CARVALHO, J. B. de – Caracterização Morfoestratigráfica do Preenchimento Sedimentar da Baía do Iguape- BA- Influência das Variações Eustáticas do nível do Mar e Atividades Tectônicas Recentes. 2000. 119 f. **Dissertação de Mestrado** – Curso de Pós-graduação em Geologia- Área de Geologia Costeira Sedimentar- Instituto de Geociências- UFBA- Salvador, BA-2000.

CORDEIRO, H. K. C.; MENEZES, C. **Análise da capacidade produtiva de própolis em diferentes espécies de abelhas sem ferrão**. In: XXIV Congresso Brasileiro de Zootecnia. Vitória – ES, 2014.

CUNHA, M. S. et al. Padronização de extrativos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tíuba). **Cadernos de Pesquisa**. UFMA 2009, v. 16, p. 31-38.

DUTRA, R. P de – Características físico-químicas do geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (Tíuba) produzido no estado do Maranhão. 2006. 69 f. **Dissertação de Mestrado** –Curso de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente – UFMA- São Luís-MA, 2006.

FERREIRA, D. F. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0**. In: Reunido Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de

biometria, 45. 2000, São Carlos, Programa e Resumos. São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

FILHO, N.M.L.; MENEZES, C.; CORDEIRO, H.K.C. **Potencial produtivo de própolis com abelha sem ferrão *Frieseomelitta varia***. In: 17º Seminário de Iniciação Científica e 1º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. Belém- PA, 2013.

GONZAGA, S. R. **Criação de abelhas sem ferrão: meliponídeos**. Cuiabá, MT: SEBRAE, 174, 2004.

HEARD, T., HENDRIKZ, J. K. Factors influencing flight activity of colonies of the stingless bee *Trigona carbonaria* (Hymenoptera, Apidae). **Australian Journal of Zoology**, v 41, p.343-353, 1993.

HEINRICH, B. keeping a cool head: honeybee thermoregulation. **Science**, v. 205, p.1269-1271, 1979.

HILÁRIO, S. D. Atividade de voo e termorregulação de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo – SP, p. 124, 2005.

INOUE, H. T. et al. Produção de própolis por diferentes métodos. **Archivos Latinamericanos de Producción Animal**, v.15, p. 65-69, 2007.

IWANA, S. A influência dos fatores climáticos na atividade externa de *Tetragonisca angustula* (Apidae:Meliponinae). **Boletim do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo**, v. 2, p.189-201. 1977.

LOLI, D. Termorregulação colonial e energetica individual em abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo – SP, p. 229, 2008.

MICHENER, C. D. **The bees of the world**. Baltimore and London. The John Hopkins. University Press. Cambridge, Massachusetts, p. 913, 2000.

MOO-VALLE, H. et al. Patterns of intranidal temperature fluctuation for *Melipona beecheii* colonies in natural nesting cavities. **Journal of Apicultural Research**, v. 39, p. 3-7, 2000.

PIANARO, A de – Ecologia química de abelhas brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Pebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides*. **Dissertação de Mestrado**, Instituto de química UNICAMP, São Paulo, 138 p, 2007.

PROST, C. Resex Marinha Versus Pólo Naval na Baía do Iguape. <http://www.uff.br/vsinga/trabalhos/Trabalhos%20Completo/Catherine%20Prost.pdf>. Acesso em 13 de novembro de 2012.

ROLDÃO, Y.S de – Termorregulação colonial e a influência da temperatura no desenvolvimento da cria em abelhas sem ferrão, *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). 2011. 107 f. **Dissertação de Mestrado** – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras –USP- Ribeirão Preto-SP, 2011.

ROUBIK, D. W. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge Tropical Biology Series, p. 514, 1989.

ROUBIK, D. W.; PERALTA, F. J. A. Thermodynamics in nests of two *Melipona* species in Brazil. **ACTA Amazônica**, v. 13, n. 2, p. 453-466, 1983.

SANTANA, A. G de – Produção de própolis por *Apis mellifera* L. (africanizadas) e avaliação do uso do pólen na determinação de sua origem botânica. 2003.66f. **Dissertação de Mestrado** – Curso de Pós-Graduação em Entomologia–UFV- Minas Gerais-MG, 2003.

SANTANA, N. S de – Análise socioambiental das áreas circunvizinhas à Baía do Iguape-BA. 2008. 219 f. **Dissertação de Mestrado** – Curso de Pós-Graduação em Geografia–UFBA- Salvador-BA, 2008.

SAS-Statistical Analysis System. **SAS user's guide version 8**. 13 th ed. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2008.

SIQUEIRA, J. S. et al. **Determinação de constituintes inorgânicos em amostras de geoprópolis**. In: 54<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Química. Natal 03-07 novembro, 2014.

SOUZA, L. S. et al. Produção de geoprópolis sob diferentes métodos de coletas em colônias de *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae). **Magistra** - Cruz das Almas-BA, v. 23, 2011.

SOUZA, H. R de – Espectro polínico e influência de parâmetros climáticos na produção de própolis da Abelha Tubi - *Scaptotrigona aff. postica* (Latreille, 1807) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). 2013. 70 f. **Dissertação de Mestrado** – Curso de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação –UFMA- São Luís, MA-2013.

## CAPÍTULO 2

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DA GEOPRÓPOLIS DE  
*Melipona scutellaris* Latreille, 1811 DA BAÍA DO IGUAPE-BA**

## QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DA GEOPRÓPOLIS DE *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 DA BAÍA DO IGUAPE-BA

**RESUMO:** Geoprópolis é uma substância obtida pelas abelhas sociais sem ferrão da tribo Meliponini, constituída da mistura de resinas de plantas enriquecidas de secreções salivares, enzimas, cera e pólen, além de utilizarem terra e/ou barro na constituição do produto final. A aplicação desse importante produto meliponícola tem apresentado uma demanda crescente de mercado mas que, a despeito de seu consumo medicinal, ainda possui poucos estudos que possibilitem definir padrões microbiológico desse produto. O objetivo deste trabalho foi quantificar a presença de microrganismos contaminantes, de acordo com as estações do ano em amostras da geoprópolis de *Melipona scutellaris* Latreille, provenientes da Baía do Iguape, Bahia. Vinte e quatro amostras da geoprópolis colhidas no período de um ano, foram avaliadas quanto a quantificação microbiológica. Para tanto, determinou-se: microrganismos aeróbios mesófilos, microrganismos aeróbios psicotróficos, bolores e leveduras, *Clostridium* sulfito redutores, coliformes totais, *Escherichia coli*, presença e ausência *Salmonella* sp. e *Staphylococcus* coagulase positiva. Dentre as amostra da geoprópolis avaliadas, constatou-se com relação aos dados para microrganismos aeróbios mesófilos uma média de contagem de microrganismos para M1 de  $9,6 \times 10^9$  UFC.g<sup>-1</sup>, enquanto para M2 foi encontrada uma contagem de  $1,0 \times 10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>. Com relação as médias encontradas para microrganismos aeróbios psicotróficos, em M1 ( $2,6 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>) e M2 ( $2,4 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>) apresentou valor de contaminação próximo. Para bolores e leveduras foi encontrada uma média de contagem de microrganismos para M1 de  $1,1 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>, enquanto para M2 de  $6,6 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup>. Com relação à análise das amostras da geoprópolis de *Melipona scutellaris* coletas na região da Baía do Iguape, Bahia, Brasil, apresentaram carga microbiológica, no entanto, apresentaram ausência microbiológica para microrganismo *Clostridium* sulfito redutores e *Salmonella* sp.

**Palavras chave:** Análise microbiológica, quantificação microbiológica, microrganismos contaminantes

**MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SAMPLES OF GEOPRÓPOLIS OF  
*Melipona scutellaris* Latreille, 1811 OF THE BAY OF THE IGUAPE-BA**

**ABSTRACT:** Geoprópolis is a substance obtained by the social bees without goad of the tribe Meliponini, constituted of the mixture of resin of plants made rich of salivary secretions, enzymes, wax and pollen, besides they use land and / or clay in the constitution of the final product. The application of this important product meliponícola has been presenting a growing demand of market but what, in spite of his consumption you medicate, it still has few studies what they make possible to define standards microbiologically of this product. The objective of this study was to quantify the presence of contaminating microorganisms, according to the seasons in geopropolis samples of *Melipona scutellaris* Latreille, from Iguape Bay, Bahia. Twenty-four samples of geopropolis harvested within one year, were evaluated for microbial quantification. Therefore, it was determined: aerobic mesophilic, psychrotrophic aerobic bacteria, molds and yeasts, *Clostridium* sulphite reducers, coliformes totals, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and *Staphylococcus* coagulase makes positive. Among the evaluated sample of geoprópolis, it was found with respect to data for an average aerobic mesophilic microorganisms count for M1 de  $9,6 \times 10^9$  UFC.g<sup>-1</sup>, while M2 was found to count  $1,0 \times 10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>. Regarding the means found to psychrotrophic aerobic microorganisms in M1 M1 ( $2,6 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>) and M2 ( $2,4 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>) showed a value of next contamination. For molds and yeasts found an average of count for microorganisms M1  $1,1 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>, while for M2  $6,6 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup>. Regarding the analysis of geoprópolis samples of *Melipona scutellaris* collected in the region of the Bay of Iguape, Bahia, Brazil, showed microbiological load, however, showed no microbiological for microorganism *Clostridium* sulfite reducers and *Salmonella* sp.

**Key words:** Microbiological analysis, microbiological quantification, contaminating micro-organisms

## INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância de composição complexa, formada a partir de resinas de plantas coletada pelas abelhas (SILVA et al., 2008) além dessas, na colmeia as abelhas enriquecem este material adicionando secreções salivares, enzimas, cera e pólen para a elaboração do produto final (GHISALBERTI, 1979). As abelhas sociais sem ferrão produzem a própolis, porém quando elaborada pela tribo Meliponini é popularmente conhecido como geoprópolis (CUNHA et al., 2009).

A própolis elaborada pelas Meliponini difere daquela produzida pelas abelhas sociais sem ferrão da tribo Trigonini e pelas abelhas do gênero *Apis* por utilizarem terra e/ou barro na constituição do produto, além de constituir numa mistura de resinas de plantas e cera (FREITAS, 2002).

Geoprópolis de abelhas sociais sem ferrão tem se destacado pelas suas propriedades biológicas e químicas, porém, a sua utilização terapêutica ainda é incipiente. A variabilidade da composição química é explicada por meio da função de sua origem geográfica, visto que em diferentes ecossistemas principalmente em regiões tropicais, as abelhas recorrem as diversidades vegetais como fontes de matérias-primas empregadas em sua elaboração (BANKOVA et al., 2000).

A própolis e geoprópolis de abelhas sociais sem ferrão são utilizadas popularmente para tratamento de diferentes doenças, com várias atividades biológicas (CUNHA et al., 2013; FRANCHIN et al., 2013), vários estudos tem relatado a eficiência destes produtos em tratamentos na área medica (CARVALHO et al., 2011; FRANCHIN et al., 2013). Entretanto, CUNHA et al. (2009) ressalta que para o uso no sistema de saúde pública é necessária a padronização química do produto, garantia da qualidade, eficácia e segurança.

Estudos voltados aos compostos bioativos da própolis e geoprópolis produzidas por diferentes espécies de abelhas têm proporcionado uma maior procura pelo produto *in natura*, esses estudos vêm aumentando substancialmente, alcançando resultados positivos, no entanto, ainda são escassos os estudos voltados à avaliação microbiológica, como própolis e geoprópolis.

Durante a coleta do material biológico a contaminação pode estar associada à veiculação de microrganismos pela manipulação inadequada do produto da colmeia até mesmo no beneficiamento por meio da separação de contaminantes

macroscópicos (folhas, madeiras, insetos, etc.), ou pelas próprias abelhas. Além de más condições de armazenamento (temperatura e umidade), ou até mesmo por ser um produto composto por barro, prejudicando assim o valor comercial do produto (MATSUDA, 2002).

Para assegurar que um produto com qualidade chegue às mãos dos consumidores, o mercado consumidor exige cada vez mais um produto que seja bem elaborado e de qualidade, sendo necessária a realização de análises microbiológicas que assegurem a qualidade do produto. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi quantificar a presença de microrganismos contaminantes, de acordo com as estações do ano em amostras da geoprópolis de *Melipona scutellaris* Latreille, provenientes da Baía do Iguape, Bahia.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Amostras da Geoprópolis**

Foram instalados os Meliponários na Baía do Iguape-BA, utilizando 10 colônias de *M. scutellaris*, sendo selecionadas cinco colônias por Meliponário. As colônias foram alojadas em caixas Modelo INPA, onde foram periodicamente realizadas inspeções sobre as condições de desenvolvimento, por meio de revisões e avaliações das colônias.

Durante os meses de agosto de 2013 a julho de 2014, as abelhas foram estimuladas a produzir geoprópolis utilizando o método de coleta adaptado do coletor do tipo CPI® (Coletor de Própolis Inteligente), desenvolvido pelo apicultor Sr. Adomar Jesus de Carvalho. O método utilizado para indução da geoprópolis foi por meio de uma abertura frontal no centro das melgueiras, com dimensões de 11,5 x 2 cm, onde as peças laterais foram de 10 x 2 cm na parte interna e 24,5 x 1,0 cm na parte externa com profundidade da barra superior e inferior de 2,0 cm, sendo este um dispositivo móvel.

A coleta da geoprópolis foi realizada na segunda semana de cada mês totalizando 24 coletas, portanto 24 amostras. Utilizou-se embalagem individual atóxica para acondicionar as amostras de forma higienicamente correta.

Os materiais coletados foram etiquetados e encaminhados ao Núcleo de Estudos dos Insetos (INSECTA) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em Cruz das Almas-BA. A partir do material coletado, as amostras foram homogeneizadas e armazenadas em frasco estéril em temperatura ambiente no período de 24 horas e em seguida foram realizadas as análises microbiológicas. Para correlacionar os dados encontrados foi utilizado parâmetro climático, de acordo com as estações do ano para as amostras da geoprópolis da Baía do Iguape.

### **Análise microbiológica da geoprópolis**

As amostras da geoprópolis foram submetidas às seguintes análises microbiológicas: microrganismos aeróbios mesófilos, microrganismos aeróbios psicrotróficos, bolores e leveduras, *Clostridium* sulfito redutores, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* coagulase positiva. A análise microbiológica foi realizada de acordo com a metodologia descrita no manual da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005) e no Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos (SILVA et al., 2010). Para o preparo das amostras para análise utilizou-se 5 g de cada amostra da geoprópolis, onde foram homogeneizadas em 45 mL de água peptonada 0,1% (Merck), obtendo-se uma diluição de  $10^{-1}$ , após esse procedimento realizaram-se diluições seriadas sucessivas até a diluição  $10^{-12}$ , com transferências sucessivas de alíquotas de 1 mL entre tubos de ensaio contendo 9,0 mL do diluente para obtenção das concentrações.

### **Aeróbios mesófilos**

A contagem das bactérias aeróbias mesófilas foi realizada em placas de Petri contendo Plate Count Agar (PCA). Foi inoculado 1 mL das diluições por profundidade, o inóculo foi espalhado por incorporação. As placas foram incubadas a 35 °C durante 48h. Utilizou-se contador de colônias para contagem das unidades formadoras de colônias (colônias entre 15 e 150 UFC) e o número de UFC foi

calculado a partir da média dos valores obtidos. Os resultados foram expressos em UFC.g<sup>-1</sup> (BAM, 1998).

### **Aeróbios Psicotróficos**

A contagem das bactérias aeróbias psicotróficas foi realizada em placas de Petri contendo Plate Count Agar (PCA). Foi inoculado 0,1 mL das diluições por superfície, o inóculo foi espalhado cuidadosamente por toda superfície dos meios, até sua completa absorção. As placas foram incubadas a 7 °C durante 10 dias. A contagem das unidades formadoras de colônias foi realizada utilizando contador de colônias (colônias entre 15 e 150 UFC) e o número de UFC foi calculado a partir da média dos valores obtidos. Os resultados foram expressos em UFC.g<sup>-1</sup> (BAM, 1998).

### **Bolores e leveduras**

A contagem de bolores e leveduras foi realizada em placas de Petri contendo ágar batata dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico. Foi inoculado 0,1 mL das diluições por superfície, o inóculo foi espalhado cuidadosamente por toda superfície dos meios, até sua completa absorção. As placas foram incubadas a 25°C durante cinco dias. A contagem das unidades formadoras de colônias foi realizada utilizando contador de colônias (colônias entre 15 e 150 UFC) e o número de UFC foi calculado a partir da média dos valores obtidos. Os resultados foram expressos em UFC.g<sup>-1</sup> (BAM, 1998).

### ***Clostridium* sulfito redutores**

A contagem de *Clostridium* sulfito redutores foi realizada em placas de Petri contendo ágar triptose sulfito cicloserina (TSC). Foi inoculado 1 mL das diluições por profundidade, o inóculo foi espalhado por incorporação. Em cada placa inoculada foram adicionados 15 mL do meio TSC, previamente preparada, enriquecido com gema de ovo e suplemento S.F.P. e arrefecido. As placas foram

incubadas em jarra de anaerobiose à 46 °C durante 24h. A contagem das unidades formadoras de colônias s foi realizada utilizando contador de colônias (colônias entre 15 e 150 UFC) e o número de UFC foi calculado a partir da média dos valores obtidos. Os resultados foram expressos em UFC.g<sup>-1</sup> (SILVA et al., 2010).

### **Coliformes totais e *Escherichia coli***

As contagens para coliformes totais e *Escherichia coli* foram realizadas utilizando o método Simplate. Colocou-se um 1 mL de cada amostra das diluições seriadas (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>) em tubos de ensaio e adicionou-se 9 mL de Meio Simplate Hidratado, previamente adicionado a 100 mL de água estéril, por cada placa de contagem. Inoculou-se cada amostra na placa de contagem, removeu-se o excesso de líquido no algodão e incubou-se a 35°C na estufa durante 24h. Confirmaram-se os resultados após as 48h. Consideram-se positivos os poços que mudaram de cor. Os resultados foram expressos em UFC.g<sup>-1</sup> (AOAC 2005).

### ***Salmonella* sp.**

A detecção foi realizada utilizando o método 1-2 TEST. Preparou-se a amostra (diluição 10<sup>-1</sup>) pré-enriquecida com água peptonada e incubou-se a 24±2h na estufa a 35-37°C. Passadas as 24h, posicionou-se o 1-2 Test com a tampa preta para cima, retirou-se a tampa e adicionou-se 1 gota de reagente # 1 (Solução de Iodo- Iodeto) na câmara e agitado suavemente. Reposicionou-se o 1-2 Test com a tampa preta para cima e retirou-se a tampa do plug da câmara de inoculação usando uma pinça estéril para retirar o plug. O plug foi retirado para que a amostra incubada fosse capaz de se mover desde a câmara de inoculação até a câmara de mobilidade. Antes da inoculação a amostra foi agitada suavemente. Transferiu-se 0,1mL da amostra na câmara de inoculação. Em seguida, posicionou-se o 1-2 Test com a tampa branca para cima, retirou-se a tampa. Cortou-se a tampa branca com uma tesoura. O corte foi realizado no local em que a ponta se encontrava com a base do vácuo do gel anterior. Adicionou-se 1 gota de Reagente #2 (Preparação com Anticorpo) no poço de gel formado pela ponta da tampa, na câmara de mobilidade. Uma gota do Reagente #2 encheu uniformemente dois-terços do vácuo

do gel. Isto foi determinado observando a solução azul do anticorpo no vácuo. Colocou-se o inoculado 1-2 Test com a tampa branca para cima e incubou-se entre 14 a 30 horas a 35°C na BOD. Os resultados foram expressos por meio da presença ou ausência de *Salmonella* sp. (AOAC, 2005).

### ***Staphylococcus coagulase positiva***

A contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* foi realizada em placas de Petri com ágar Baird-Parker (BP), previamente preparada, enriquecido com gema de ovo e arrefecido. Foi inoculado 0,1 mL das diluições por superfície, o inóculo foi espalhado cuidadosamente por toda superfície dos meios, até sua completa absorção. As placas foram incubadas a 35°C durante 48h. A contagem das unidades formadoras de colônia foi realizada utilizando contador de colônias (colônias entre 15 e 150 UFC) e o número de UFC foi calculado a partir da média dos valores obtidos. Os resultados foram expressos em UFC.g<sup>-1</sup> (SILVA et al., 2010).

### **Análise Estatísticas**

Os dados microbiológicos foram submetidos ao teste Kruskal-Wallis, utilizando o programa estatístico (SAS, 2008).

## **RESULTADOS**

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados obtidos para a quantificação microbiana das amostras da geoprópolis da abelha *M. scutellaris* provenientes da Baía do Iguape.

Com relação aos dados obtidos para microrganismos aeróbios mesófilos, foi encontrada uma média de contagem de microrganismos para M1 de 9,6x10<sup>9</sup> UFC.g<sup>-1</sup>, enquanto para M2 foi encontrada uma contagem de 1,0x10<sup>10</sup> UFC.g<sup>-1</sup>. Com relação as médias encontradas para microrganismos aeróbios psicrotóxicos, em M1 (2,6x10<sup>8</sup> UFC.g<sup>-1</sup>) e M2 (2,4x10<sup>8</sup> UFC.g<sup>-1</sup>) apresentou valor de

contaminação próximo. Para bolores e leveduras foi encontrada uma média de contagem de microrganismos para M1 de  $1,1 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>, enquanto para M2 de  $6,6 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup>. Valores obtidos para os parâmetros microbiológicos coliforme totais, *E. coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva das amostras da geoprópolis M2 avaliadas, obtiveram média de contagem UFC.g<sup>-1</sup> maiores que nas amostras encontradas na geoprópolis M1. Os microrganismos *Clostridium* sulfito redutores e *Salmonella* sp. foram considerados ausentes nas amostras das geoprópolis estudadas.

A legislação brasileira para produtos apícolas, estabelece que *Salmonella* deve estar ausente em 25 g da amostra (BRASIL, 2001). Entretanto, é conveniente realizar um controle microbiológico para maior controle e garantia de qualidade por exigências do mercado internacional e seguindo tendências de aprimoramento da qualidade do produto nacional.

Tabela 1. Valores obtidos para os parâmetros microbiológicos de amostras da geoprópolis de *Melipona scutellaris* produzidas no período de agosto de 2013 a julho de 2014 na Baía do Iguape – BA.

Contagem UFC.g <sup>-1</sup>	Meliponário 1 (M1)		Meliponário 2 (M2)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Aeróbio Mesófilo	$9,6 \times 10^9$	$3,3 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{10}$	$3,6 \times 10^{10}$
Aeróbio Psicrotróficos	$2,6 \times 10^8$	$5,8 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$4,8 \times 10^8$
Bolores/leveduras	$1,1 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$6,6 \times 10^7$	$6,3 \times 10^7$
Coliforme totais	$9,1 \times 10^7$	$2,0 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$4,4 \times 10^8$
<i>E. coli</i>	$8,1 \times 10^7$	$1,5 \times 10^8$	$1,4 \times 10^8$	$3,6 \times 10^8$
S. coagulase positiva	$5,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$
<i>Clostridium</i> sulfito redutores	$<10^{-1}$	$<10^{-1}$	$<10^{-1}$	$<10^{-1}$
<i>Salmonella</i> sp.	$<10^{-1}$	$<10^{-1}$	$<10^{-1}$	$<10^{-1}$

Na Tabela 2, utilizando o teste estatístico Kruskal-Wallis demonstrou haver diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para a bactérias aeróbias psicotróficos quando comparado os diferentes períodos de coletas (diferentes estações do ano), observa-se que todas as amostras de acordo com a estação do ano apresenta percentuais elevado de UFC.g<sup>-1</sup>, exceto para as analise de *Salmonella* sp. e *Clostridium* sulfito redutores que apresentaram ausência em todas as amostras da geoprópolis.

Tabela 2. Valores obtidos para os parâmetros microbiológicos, de acordo com as estações do ano para as amostras da geoprópolis de *Melipona scutellaris* produzidas no período de agosto de 2013 a julho de 2014 na Baía do Iguape – BA.

Contagem UFC.g <sup>-1</sup>	Inverno <sup>1</sup>		Outono <sup>2</sup>		Primavera <sup>3</sup>		Verão <sup>4</sup>		Pr >
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Mesófilo	1,2x10 <sup>8</sup>	1,2x10 <sup>8</sup>	3,6x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>7</sup>	3,3x10 <sup>7</sup>	5,9x10 <sup>7</sup>	4,0x10 <sup>10</sup>	6,2x10 <sup>10</sup>	0,1608 <sup>ns</sup>
Psicotróficos	9,3x10 <sup>7</sup>	6,3x10 <sup>7</sup>	1,2x10 <sup>7</sup>	3,6x10 <sup>6</sup>	9,1x10 <sup>6</sup>	4,1x10 <sup>6</sup>	9,0x10 <sup>8</sup>	7,5x10 <sup>8</sup>	0,0006*
Bol./leveduras	5,2x10 <sup>7</sup>	7,3x10 <sup>7</sup>	7,9x10 <sup>7</sup>	7,7x10 <sup>7</sup>	2,6x10 <sup>7</sup>	3,9x10 <sup>7</sup>	2,0x10 <sup>8</sup>	3,5x10 <sup>8</sup>	0,5878 <sup>ns</sup>
Coliforme totais	2,7x10 <sup>8</sup>	5,6x10 <sup>8</sup>	1,5x10 <sup>8</sup>	2,8x10 <sup>8</sup>	7,8x10 <sup>7</sup>	1,0x10 <sup>8</sup>	2,5x10 <sup>8</sup>	3,7x10 <sup>8</sup>	0,8630 <sup>ns</sup>
<i>E. coli</i>	1,6x10 <sup>8</sup>	1,9x10 <sup>8</sup>	0,0	0,0	6,6x10 <sup>6</sup>	1,0x10 <sup>7</sup>	2,7x10 <sup>8</sup>	4,9x10 <sup>8</sup>	0,2738 <sup>ns</sup>
<i>S.coagulase</i> positiva	2,0x10 <sup>8</sup>	3,7x10 <sup>8</sup>	5,6x10 <sup>7</sup>	2,6x10 <sup>7</sup>	5,1x10 <sup>7</sup>	2,1x10 <sup>7</sup>	5,5x10 <sup>7</sup>	2,8x10 <sup>7</sup>	0,9532 <sup>ns</sup>
<i>Clostridium</i>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>
<i>Salmonella</i> sp.	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>-1</sup>

Meses referente as estações do ano :<sup>1</sup> Julho, Agosto, Setembro. <sup>2</sup> Abril, Maio, Junho. <sup>3</sup> Outono, Novembro, Dezembro, Janeiro, Fevereiro, Março. \* Teve diferença significante pelo teste Kruskal-Wallis. ns = não significante.

## DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas da geoprópolis não podem ser comparados a nenhum padrão microbiológico, pois a legislação brasileira é omissa e inespecífica em relação aos critérios de qualidade microbiológica para este

produto das abelhas sociais sem ferrão. No entanto, existe o regulamento técnico qualidade microbiológica para própolis, recomendando apenas que sejam seguidas as práticas de higiene considerando que é necessário instituir medidas que normatizem a industrialização de produtos de origem animal, garantindo condições de igualdade entre os produtores e assegurando a transparência na produção, processamento e comercialização (BRASIL, 2001).

Em estudo realizado com própolis de *Tetragonisca angustula* e geoprópolis de *M. scutellaris*, *Melipona quadrifasciata antothidioide* e *Melipona asilvai* produzidas em uma área restrita no Recôncavo da Bahia (SOUZA, 2011) encontrou nas amostras de própolis de *T. angustula* um percentual de 50% para contagem de coliformes totais, obtendo-se resultados entre  $<3,0$  e  $> 1100$  NMP.g<sup>-1</sup> e nenhuma das amostras foi positiva para presença de coliformes termotolerantes.

Diante dos resultados obtidos neste estudo, para a quantificação e qualificação microbiana das amostras da geoprópolis da abelha *M. scutellaris* provenientes da Baía do Iguape, foi demonstrado à presença de microrganismos aeróbios mesófilos, microrganismos aeróbios psicotróficos, bolores e leveduras, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, no entanto, não apresentou carga microbiológica para microrganismo *Clostridium* sulfito redutores e *Salmonella*.

Sousa (2011) em estudos com amostras de geoprópolis de *M. scutellaris* constatou um percentual de 40% para contagem quanto à presença de coliformes totais, obtendo-se valores entre  $<3,0$  e  $> 1100$  NMP.g<sup>-1</sup>, bem como foram detectados em 100% das amostras da geoprópolis de *M. asilvai*, obtendo valores entre 23 e  $>1100$  NMP.g<sup>-1</sup>.

Em geral, microrganismos indicadores, como o grupo dos coliformes, são utilizados para avaliar a sanificação dos alimentos. Esses indicadores podem ser usados para avaliar aspectos gerais de qualidade, ou seja, os microrganismos indicadores são rotineiramente empregados para avaliar a qualidade do produto final e a higiene empregada no seu processamento (SANT'ANA, 2003). Coliformes totais indicam cuidados com a higiene dos materiais e manipulação (ALVES et al., 2011). No entanto, a presença de coliformes termotolerantes indica a contaminação com matéria orgânica de origem fecal. Diante de estudos de contaminantes microbiológicos, o presente trabalho se revela importante, investigação de microrganismo presente nas amostras avaliadas de geoprópolis, afirma a

necessidade da manipulação desse material de forma adequada seguindo as boas praticas de fabricação, dessa forma, evitando contaminação nos demais produtos dentro da colônias.

Entre as amostras da geoprópolis de *M. scutellaris* foi apresentado para M1  $5,0 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> para *Staphylococcus* coagulase positiva,  $9,6 \times 10^6$  UFC.g<sup>-1</sup> para microrganismos aeróbios mesofilo, bem como para M2  $6,6 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> para bolores e leveduras,  $1,0 \times 10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup> para microrganismos aeróbios mesofilos. Santos (2007) constatou para identificação da flora microbiana, presente no mel, própolis, pólen, cera e alimento larval de *M. scutellaris* e *T. clavipes*, somente espécies de Bacillus tendo contagem microbiana de  $1 \times 10^3$  a  $4 \times 10^5$  e de  $1 \times 10^3$  e  $9 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Entre os produtos estudado, a propólis foi o que apresentou maior número de microrganismos,  $1,8 \times 10^5$  e  $9 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup>.

Avaliando a qualidade microbiológica de amostras de própolis produzida em Trás-os-Montes no extremo nordeste de Portugal (DIAS, 2012) encontrou resultados representados com média  $\pm$  desvio padrão para microrganismos aeróbios mesofilos,  $71.666,70 \pm 51.661,11$  UFC.g<sup>-1</sup> e  $106.76 \pm 23.09$  UFC.g<sup>-1</sup> dados este para amostra de duas regiões Mogadouro e Mirandela, respectivamente.

A legislação brasileira, em sua Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001) não estabelecer parâmetros para a contagem padrão em placas de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos. Embora os microrganismos mesófilos aeróbios não estejam diretamente ligados à presença de patógenos ou suas toxinas, estes são úteis na avaliação da inocuidade, indicando deficiências nas condições sanitárias ou nas etapas de processamento (SILVA, 2010).

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, os valores quantitativos de microrganismos indicadores avaliados foram elevado na maioria dos critérios microbiológico exceto para *Salmonella* sp. e *Clostridium*. Não existem estudos sobre a quantidade de bactérias presente na geoprópolis de *M. scutellaris*, mas essa alta incidência pode ser explicada, considerando que as abelhas sociais sem ferrão (*M. scutellaris*) coletam solo para produzir a geoprópolis, que é comum nas colmeias da espécie estudada.

Barth (2004) argumenta que, em períodos de escassez, as abelhas podem forragear nos mais diversos substratos, desde colônias fúngicas passando por solo, argila e até mesmo matéria orgânica de origem fecal.

A população microbiana presente neste referido trabalho realizado com geoprópolis de *M. scutellaris* demonstrou elevada carga microbiológica UFC.g<sup>-1</sup> para alguns critérios microbiológico, isso se deve, provavelmente, ao fato deste produto ser composto por solo ou argila. A abundância, a composição e a diversidade dos organismos do solo são fortemente dependentes da sua profundidade (HANSEL et al., 2008). No entanto, a presença de um microrganismo específico em determinado solo é função das condições ambientais dominantes e dos limites de sua bagagem genética (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Eltz (2002) citando diversos autores, ressalva que a coleta de fungos por abelhas em substituição ao pólen, foi verificada em espécies dos gêneros *Apis*, *Trigona* e *Partamona*. Espécie de levedura foi isolada em abelhas sem ferrão, e associada aos alimentos (mel e pólen), própolis, detritos e abelhas adultas, das espécies *M. quadrifasciata*, *M. rufiventris*, *T. angustula* e *Trigona fulviventris* (TEIXEIRA et al., 2003).

Segundo Matsuda (2002) técnicas de irradiação gama para preservação de própolis, permitiu a diminuição da carga microbiana para níveis não detectáveis, devendo ainda ser utilizada como ressalva por ser um tratamento capaz de reduzir adequadamente a carga microbiana sem, contudo, afetar as propriedades que a caracterizam. Outros trabalhos relacionados à quantificação de microrganismos na própolis foram desenvolvidos, porém foram trabalhos analisando própolis produzida por *A. mellifera*, sendo ainda poucos trabalhos com geoprópolis de abelhas sociais sem ferrão.

## CONCLUSÕES

A geoprópolis de *Melipona scutellaris* coletas na região da Baía do Iguape, Bahia, Brasil, apresentaram carga microbiológica, no entanto, apresentaram ausência microbiológica para microrganismo *Clostridium* sulfito redutores e *Salmonella* sp.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, T.T.L. et al. Caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis de abelhas nativas do nordeste brasileiro. **Revista Verde**, Mossoró, v.6, n.3, p.91-97, 2011.

AOAC. **Official Methods of Analysis**, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA. 2005.

BANKOVA, V. S.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, n. 1, p. 3-15, 2000.

BAM/FDA. Bacteriological Analytical Manual/Food and Drug Administration. 8th, Arlington: Association of Official Analytical Chemists.1998.

BARTH, O.M. Melissopalynology in Brazil: a review of honeys of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, Campinas, v.61, n.3, p.342-350, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério de Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os 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] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 23 jan 2001. Seção 1, p. 18-23.

CARVALHO, A. A. et al. In vivo antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1239–1245, 2011.

CUNHA, M. S. et al. Padronização de extrativos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (Tiúba). **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 16, n. 3, p. 31-38, 2009.

CUNHA, M. G. et al. Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geoprópolis. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-9, 2013.

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

ELTZ, T.; BRÜHL, C. A.; GÖRKE, C. Collection of mold (*Rhizopus* sp.) spores in lieu of pollen by the stingless bee *Trigona collina*. **Insects Sociaux**, v. 49, n. 1, p. 28-30, 2002.

FRANCHIN, M. et al. Bioactive fraction of geoprópolis from *Melipona scutellaris* decreases neutrophils migration in inflammatory process: involvement of nitric oxide pathway. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

FREITAS, F. O. **Uso da Palinologia em amostras arqueológicas de Própolis na reconstituição da vegetação histórica de uma região**. 1 ed. Brasília: EMBRAPA, 2002. 17p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 22).

GHISALBERTI, E. L. Propolis: A review. **Bee World**, v. 60, p. 59-84, 1979.

HANSEL, C. M. et al. Changes in Bacterial and Archaeal Community Structure and Functional Diversity along a Geochemically Variable Soil Profile. **Applied and Environmental Microbiology**, v.74, no.5, p.1620-1633, 2008.

MATSUDA, A. H. de - Aplicação da técnica de irradiação gama para preservação de própolis. 2002. 86 f. **Dissertação** (mestrado) em Ciência na área de Tecnologia Nuclear-Aplicações- Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, 2002.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: Editora UFLA. própolis. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1239–1245, 2002.

SANT'ANA, A. S. et al. Qualidade microbiológica de águas minerais. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v.23, supl., p. 190 -194, 2003.

SANTOS, A. L. de - Identificação da flora microbiana em colmeias de Meliponina. 2007. 46 f. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, 2007.

SAS-Statistical Analysis System. **SAS user's guide version 8**. 13th ed. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2008.

SILVA, B. B. et al. **Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of brazilian própolis**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 5, p. 313–316, 2008.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4 ed. São Paulo: Livraria Varela, p.624, 2010.

SOUZA, L. S. et al. Quantificação de coliformes em própolis e geoprópolis de abelhas sociais sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponina). In: Seminário Brasileiro de Própolis e Pólen. **Magistra**, v. 23, número especial, outubro, 2011.

TEIXEIRA, A. C. P. et al. *Starmerella meliponinorum* sp. nov., a novel ascomycetous yeast species associated with stingless bees. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 339-343, 2003.

## CAPÍTULO 3

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO  
HIDROALCOÓLICO DA GEOPRÓPOLIS FRENTE À *Staphylococcus aureus*  
e *Salmonella* Enteritidis**

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO  
HIDROALCOÓLICO DA GEOPRÓPOLIS FRENTE À *Staphylococcus aureus*  
e *Salmonella* Enteritidis**

**RESUMO:** A geoprópolis é uma substância resinosa coletada pelas abelhas de diversas partes das plantas, a qual elas acrescentam cera e barro. Sendo utilizada como um medicamento popular, devido as suas propriedades tidas como biológicas e farmacêuticas. Assim este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da geoprópolis da *Melipona scutellaris*, frente a bactéria Gram-positiva e Gram-negativa. No presente estudo, foi avaliada a atividade antimicrobiana de amostras da geoprópolis, proveniente da Baía do Iguape, Bahia. Extratos hidroalcoólico da geoprópolis foram preparados para determinar concentrações mínima inibitória (CMI) e concentrações bactericidas mínima (CBM) frente ao crescimento de microrganismo *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis usando o método de microdiluição em placas de 96 poços. O extrato hidroalcoólico mostrou atividade antimicrobiana para concentração bactericida mínima (CBM) demonstrando ação bactericida entre as concentrações 0,5% à 4% para microrganismo *S. aureus* e ação bacteriostático entre as concentrações 0,125% à 1%. Com relação à concentração bactericida mínima (CBM) demonstrando ação bactericida entre as concentrações 0,5% à 4% para microrganismo *Salmonella* Enteritidis e ação bacteriostático entre as concentrações 0,125% à 1%. Desta forma pode-se concluir que o extrato hidroalcoólico da geoprópolis de *M. scutellaris* demonstrou ser uma fonte natural promissora contra *S. aureus* e *Salmonella* Enteritidis. Concentrações reduzidas de extrato hidroalcoólico da geoprópolis é capaz de inibir o crescimento microbiano.

**Palavras chave:** *Melipona scutellaris*, atividade antimicrobiana, bactericida, bacteriostático

**EVALUATION *IN VITRO* OF THE ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF THE  
HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF GEOPRÓPOLIS IN FRONT OF THE  
*Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Enteritidis**

**ABSTRACT:** The geoprópolis is a resinous substance collected by bees from different parts of the plants, which they add wax and clay. Being used as a folk medicine due to their properties taken as biological and pharmaceutical. So this study was to evaluate the antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of geoprópolis of *Melipona scutellaris*, against Gram-positive and Gram-negative bacteria. In the present study, we evaluated the antimicrobial activity of geoprópolis of samples, the Bay of the Iguape, Bahia. Hydroalcoholic extracts of geoprópolis were prepared to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentrations (MBC) against the growth of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Enteritidis using the microdilution method in 96-well plates. The hydroalcoholic extract showed antimicrobial activity for minimum bactericidal concentration (MBC) demonstrating bactericidal concentrations between 0.5% to 4% for microorganism *S. aureus* and bacteriostatic action between 0.125% to 1% concentration. Regarding the minimum bactericidal concentration (MBC) showing bactericidal concentrations between 0.5% to 4% for *Salmonella* Enteritidis microorganism and bacteriostatic action between 0.125% to 1% concentration. Thus it can be concluded that the hydroalcoholic extract of geoprópolis *M. scutellaris* proved to be a natural promising source against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Enteritidis. Reduced concentrations of geoprópolis hydroalcoholic extract is able to inhibit microbial growth.

**Key words:** *Melipona scutellaris*, antimicrobial, bactericidal Activity, bacteriostático

## INTRODUÇÃO

A geoprópolis proveniente da espécie *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) da tribo Meliponini, também conhecida como abelha urucu é encontrada no nordeste do Brasil e produz um tipo diferente de própolis composto pela mistura de resina, cera e terra (BARTH, 2006), difere daquela produzida pelas abelhas sociais sem ferrão da tribo Trigonini e pelas abelhas do gênero *Apis* por utilizarem terra e/ou barro na constituição do produto final (FREITAS, 2002).

A composição química da própolis e geoprópolis é complexa podendo variar em relação à qualidade e quantidade em função das características fitogeográficas da região onde está localizada as colônias e origem botânica de suas resinas (TEIXEIRA et al., 2003; BANKOVA, 2005; GÓMEZ-CARAVACA et al., 2006).

O constituinte químico da geoprópolis é variável, dependendo da biodiversidade da região visitada pelas abelhas, podendo possuir compostos da classe dos flavonoides, diterpenos, ácidos graxos e benzofenonas polipreniladas (SALATINO et al., 2005; DUARTE et al., 2006; CASTRO et al., 2009). Contudo destacam-se como componentes predominantes os compostos fenólicos, tais como os flavonoides, ácidos fenólicos e ésteres de ácidos fenólicos (BANKOVA et al., 1998; SOUZA et al., 2013).

Durante séculos, a própolis tem sido utilizada como um medicamento popular, devido as suas propriedades biológicas e farmacêuticas, destacam-se diversas atividades como, antimicrobiana (LIBERIO et al., 2011), antioxidante (SOUZA et al., 2013), atividade antinociceptiva (FRANCHIN et al., 2012) anti-inflamatória (FRANCHIN et al., 2012) e antitumoral (CUNHA et al., 2013).

Embora um grande número de estudos sobre a própolis foi publicado, a maior parte deles são relacionados a da abelha *Apis mellifera*. No entanto, apesar do grande número de meliponíneos no Brasil e de seu uso medicinal, muito pouco se sabe sobre a composição química e o potencial biológico da geoprópolis, assim, este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da geoprópolis da *Melipona scutellaris*, frente à bactéria Gram-positiva e Gram-negativa.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta

As amostras *in natura* da geoprópolis de abelha *M. scutellaris* foram coletadas em dois Meliponário localizado na Baía do Iguape, Bahia. As amostragens foram realizadas semanalmente no período de um ano. Um total de 96 amostras foi coletado, sendo realizado um *blande* mensal, portanto, constituindo 24 amostras. Após as coletas as amostras foram identificadas e encaminhadas ao Núcleo de Estudos dos Insetos (INSECTA) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em Cruz das Almas-BA. Inicialmente as amostras foram homogeneizadas e inspecionadas a fim de encontrar resto de abelhas, madeira, plantas, entre outros. As principais impurezas visíveis foram removidas das amostras e em seguida foram armazenados em freezer a uma temperatura de -20°C, para posteriormente realização do extrato e análises antimicrobiana.

### Extrato

Para a obtenção do extrato da geoprópolis, as amostras foram maceradas e submetidas à extração com etanol 70% em temperatura ambiente em banho ultrassônico em seguida centrifugada. Após esse processo, foi realizada a filtração para separação da parte inorgânica (terra), onde o sobrenadante foi evaporado sob baixa pressão para produzir o extrato bruto em etanol (Figura 1 e 2). Todos os extratos seco foram acondicionados em frascos de cor âmbar e tampa de rosca, armazenados em freezer a uma temperatura de -20°C, para posteriormente realizar as análises antimicrobiana (CABRAL et al., 2009). Foram preparados 24 extratos hidroalcoólicos de amostras da geoprópolis de acordo com o mês de coleta, respectivamente de Agosto de 2013 a Julho de 2014. Utilizaram-se duas amostras da geoprópolis de *M. scutellaris* (M1 e M2).



Figuras 1 e 2 – Extrato seco (A) e extrato hidroalcoólico (B). De amostras da geoprópolis de *Melipona scutellaris* produzidas no período de agosto de 2013 a julho de 2014 na Baía do Iguape – BA (fotografias tiradas pela autora).

### Preparo e obtenção do inóculo microbiano

Os microrganismos utilizados nos ensaios foram provenientes do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos e Microbiologia do Pescado da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Foram utilizadas bactérias Gram-negativas (*Salmonella Enteritidis*) e Gram-positivas, (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538). Os microrganismos utilizados foram mantidos em conservação a  $-80^{\circ}\text{C}$ , para sua reativação foi utilizado a técnica de estriamento em placa com o meio de ágar nutritivo (AN), onde foram colocadas numa BOD à temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas. Após 24 horas as colônias foram transferidas para meio líquido caldo nutritivo (5 g de peptona e 3 g de extrato de carne). Em seguida, o inóculo foi preparado pela suspensão das colônias em solução salina até a turbidez de uma solução padrão de McFarland de 0,5.

### Análise antimicrobiana

O parâmetro utilizado para determinar os efeitos inibidores nos microrganismos pelo geoprópolis foi a concentração mínima inibitória (CMI) e concentração bactericida mínima (CBM). Todos os ensaios antimicrobianos foram realizados em triplicata. Nas análises de identificação da atividade antimicrobiana, foi utilizado o método de microdiluição em placas, onde foi pesado 0,20 g do

respectivo extrato seco da geoprópolis e em seguida ressuspendido em 5 mL de álcool 70%. Foram utilizadas seis concentrações (4%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25% e 0,125%). As microplacas estéreis (96 poços), foram colocados 200 µL de amostra (concentração conhecida) nos poços da coluna 1, nos poços 2 a 6, 8 e 12 colocaram-se 100 µL de meio (caldo nutritivo). As colunas 8 a 12 da placa de 96 poços mostraram os controles realizados. Em seguida, efetuaram-se diluições sucessivas dos poços da coluna 1 até aos poços da coluna 6 (volume de 100 µL), de modo a obter uma concentração decrescente do extrato da amostra. Em seguida, adicionaram-se 20 µL de cada um dos microrganismos em estudo a todos os poços exceto nos das colunas 7 e 12. Posteriormente, as placas foram seladas com um filme respirável e incubadas a 35°C durante 24 horas. Ao fim das 24 horas colocou-se em todos os poços exceto na sétima coluna, 20 µL de cloreto de trifetil tetrazolium (TTC). As microplacas foram reincubadas por mais 4 horas à mesma temperatura e, por fim, observou-se visualmente a mudança de cor. Este procedimento foi efetuado em triplicata para cada microrganismo. O parâmetro utilizado para determinar os efeitos dos extratos foi pela concentração mínima inibitória (CMI) onde foi definido a concentração de extrato mínima capaz de impedir o crescimento do microrganismo e conseqüentemente, o aparecimento de coloração rosa. Para confirmação de morte bacteriana (CBM), retirou-se 20 µL dos poços controles e de todas as situações em que não houve crescimento bacteriano aparente e plaqueou-se o conteúdo em Ágar Mueller Hington, sendo o mesmo incubado por 24 horas à 37°C. A ausência de crescimento bacteriano indicou a concentração bactericida mínima (CORDEIRO, 2004; CLSI, 2006). Soluções de DMSO (dimetilsulfoxido) e álcool 70% foram utilizadas para controle negativo e solução do antibiótico gentamicina para controle positivo. Além de utilizar meio +inoculo e meio sem inoculo.

A CIM foi interpretada como sendo o símbolo (+) indicando o crescimento do microrganismo na concentração correspondente e (-) significando que o microrganismo não cresceu na concentração correspondente. O CBM foi interpretado como sendo o símbolo (+) Bacteriostático, (-) Bactericida. Os controles testados (DMSO e Hidroalcoólico) foram bacteriostático frente às bactérias *S. aureus* e *S. Enteritidis*.

## RESULTADOS

Os resultados do estudo para concentração mínima inibitória (CIM) e concentração mínima bactericida (CBM) do extrato hidroalcoólico da geoprópolis frente às cepas de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis, foram dispostos nas Tabelas 1 e 2. A CIM foi interpretada como sendo a menor concentração do extrato hidroalcoólico da geoprópolis capaz de inibir o crescimento visível do microrganismo após o período de incubação, enquanto que a CBM referiu-se a concentração capaz de impedir o crescimento do microrganismo em cultura (Tabelas 1 e 2).

Tratando-se da CIM (Tabelas 1 e 2) a inibição total de crescimento bacteriano foi conseguida com extrato hidroalcoólico da geoprópolis, para as amostras codificadas de M1 e M2 na concentração a 1,0%, bem como na concentração 2% e 4% para o microrganismo *S. aureus*. Além disso, para as amostras codificadas de M1 e M2, foram verificados valores de CIM nas concentrações 1,0%, 2% e 4% para o microrganismo *Salmonella* Enteritidis.

O extrato hidroalcoólico mostrou atividade antimicrobiana para concentração bactericida mínima (CBM) demonstrando ação bactericida entre as concentrações 0,5% à 4% para microrganismo *S. aureus* e ação bacteriostático entre as concentrações 0,125% à 1%. Com relação à concentração bactericida mínima (CBM) demonstrando ação bactericida entre as concentrações 0,5% à 4% para microrganismo *Salmonella* Enteritidis e ação bacteriostático entre as concentrações 0,125% à 1% (Tabelas 1 e 2).

Com relação aos controles utilizados, os mesmos indicaram esterilidade das soluções utilizadas, bem como solvente utilizado para solubilizar as amostras de 70%, inibiu o crescimento dos microrganismos testado. O controle (meio) respondeu conforme esperado, não havendo nenhum tipo de crescimento microbiano, no entanto (meio + inóculo) respondeu conforme esperado, houve crescimento microbiano.

Tabela 1. Concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CBM) do extrato hidroalcoólico da geoprópolis contra *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis da amostra M1 da geoprópolis proveniente dos meses de agosto de 2013 à julho de 2014 da Baía do Iguape- Ba.

		0,125%		0,25%		0,5%		1%		2%		4%	
		CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM
AGO	STA	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
SET	STA	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
OUT	STA	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
NOV	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
DEZ	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
JAN	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
FEV	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
MAR	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
ABR	STA	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
MAI	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
JUN	STA	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
JUL	STA	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-

CMI = (+) indica o crescimento do microrganismo na concentração. (-) significa que o microrganismo não cresceu na concentração correspondente. CBM = (+) Bacteriostático (-) Bactericida. STA= (*Staphylococcus aureus*) e SAL= (*Salmonella* Enteritidis).

Tabela 2. Concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CBM) do extrato hidroalcoólico da geoprópolis contra *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis da amostra M2 da geoprópolis proveniente dos meses agosto de 2013 à julho de 2014 da Baía do Iguape- Ba.

		0,125%		0,25%		0,5%		1%		2%		4%	
		CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM
AGO	STA	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
SET	STA	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
OUT	STA	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
NOV	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
DEZ	STA	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
JAN	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
FEV	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
MAR	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
ABR	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
MAI	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
JUN	STA	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
JUL	STA	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	SAL	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

CMI = (+) indica o crescimento do microrganismo na concentração. (-) significa que o microrganismo não cresceu na concentração correspondente. CBM = (+) Bacteriostático (-) Bactericida. STA= (*Staphylococcus aureus*) e SAL= (*Salmonella* Enteritidis).

## DISCUSSÃO

A geoprópolis é um produto natural complexo podendo ocorrer variações em seus constituintes químicos e atividades farmacológicas em função da sua origem botânica, época do ano que foi produzida, espécie de abelhas responsável pela coleta, dentre outras (TEIXEIRA et al., 2003; BANKOVA, 2005; GÓMEZ-CARAVACA et al., 2006).

No presente estudo, constatou-se que a atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólico da geoprópolis proveniente da abelha *M. scutellaris*, apresentou valor mínimo capaz de inibir o crescimento para o microrganismo *S. aureus* nas concentrações respectivamente, de 10 a 40 ug / mL, mas também apresentou valor mínimo capaz de inibir o crescimento para o microrganismo *Salmonella* Enteritidis na concentração de 10 a 40 ug / mL. Trabalho realizado por (VELIKOVA et al., 2000) afirmam que amostras da geoprópolis apresentam atividade significativa contra *S. aureus*, no entanto, apresenta uma atividade fraca contra *E. coli*.

Cunha et al. (2013) avaliaram a atividade antimicrobiana e antiproliferativa da geoprópolis da abelha social sem ferrão *M. scutellaris*, frente a seis microrganismos. Os resultados demonstraram que o extrato etanolico da geoprópolis (EEGP) inibiu significativamente o crescimento de *S. aureus* e *S. mutans* em concentrações mais baixas do que 50 ug / mL. A CMI para *S. aureus*, foi respectivamente, de 25 e 50 ug / mL, os valores de CBM mostram que EEGP apresentou atividade bactericida para concentrações acima de 1600 ug / mL contra microrganismos testados por meio da técnica de microdiluição.

Tal como foi referido pelo estudo realizado por Costa et al. (2014), foi possível comprovar que o extrato bruto etanólico da geoprópolis da *Melipona quadrifasciata* apresenta uma excelente atividade antimicrobiana frente às cepas bacterianas: *Enterococcus faecalis* (ATCC 10100) e *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341).

A própolis brasileira mostrou ação bacteriostática contra *Salmonella typhi*, enquanto a própolis da Bulgária apresentaram uma atividade bactericida e um efeito sinérgico com os três antibióticos testados (ORSI, 2006). Estudos realizados no estado do TO, com própolis testando sua ação antibacteriana para as bactérias Gram-negativas (*Salmonella* e *E.coli*) e bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *S.*

*epidermidis*), demonstrou atividade antimicrobiana, apresentando melhor atividade na cepa de *S. epidermidis* (PORTILHO, 2013).

Segundo Umthong et al. (2011) em estudos preliminares obtidos a partir de avaliações *in vitro*, a geoprópolis de *M. scutellaris* parece ser uma promissora fonte de compostos bioativos antitumor, que mostram inibição moderada ou forte de uma ampla gama de linhas de células. Além de indicam que os compostos presentes no extrato etanólico da geoprópolis e fração de hexano podem ser usados para tratar vários tipos de infecções e tumores, sem causar danos significativos para as células normais testadas. Portanto, as concentrações de EEGP podem afetar as linhas de células normais onde foram mais elevados do que aquelas eficaz contra algumas bactérias ou linhas celulares de tumor.

No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, mais de 70% das bactérias que causam infecções hospitalares são resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos respectivamente prescritos no tratamento dos pacientes. No entanto, paciente infectado com cepas resistente pode apresentam maior permanência hospitalar e requerem tratamento com drogas de segunda ou terceira linha que é caro, frequentemente mais tóxico ao paciente, e progressivamente ineficaz devido à velocidade com que organismos mutantes desenvolvem resistência (MARTINS,1998).

Assim o resultado deste trabalho apresenta um potencial promissor para futuras prospecções com a geoprópolis, uma vez que diversos ensaios prévios demonstraram o potencial antimicrobiano (DUAILIBE et al., 2007; LIBERIO et al., 2011), antioxidante (SOUZA et al., 2013), antinociceptiva (FRANCHIN et al., 2012), anti-inflamatória (FRANCHIN et al., 2012) e antitumoral (CUNHA et al., 2013; CINEGAGLIA et al., 2013) da geoprópolis de diversos Meliponídeos.

## **CONCLUSÃO**

O extrato hidroalcoólico da geoprópolis de *Melipona scutellaris* demonstrou ser uma fonte natural promissora contra *S. aureus* e *Salmonella* Enteritidis. Concentrações reduzidas de extrato hidroalcoólico da geoprópolis é capaz de inibir o crescimento microbiano.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANKOVA, V. Chemical diversity of própolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 114-117, 2005.

BANKOVA, V. et al. Constituents of Brazilian geoprópolis. **Zeitschrift für Naturforschung. C. A journal of biosciences**, v. 53, n. 5-6, p. 402-406, 1998.

BARTH, O. M. Palynological analysis of geoprópolis samples obtained from six species of Meliponinae in the Campus of the Universidade de Ribeirão Preto, USP, Brazil. **Apiacta**, v.41, p. 71- 85, 2006.

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

CASTRO, M. L. et al. Identification of a bioactive compound isolated from Brazilian própolis type 6. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 5332–5335, 2009.

CINEGAGLIA, N.C. et al. Anticancer Effects of Geoprópolis Produced by Stingless Bees on Canine Osteosarcoma Cells In Vitro. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

CLSI, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Approved standard M100-S17, 17th, ed. 2006. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa. Disponível em: <http://www.clsi.org/>. Acesso em 17 de janeiro de 2015.

CORDEIRO, P. C. S. Efeito da variação sazonal na produção de compostos ativos e na atividade antimicrobiana de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray, utilizando ensaios com microrganismos. 2004. 46 f. **Dissertação** apresentada na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, 2004.

COSTA, R.T. et al. Avaliação antimicrobiana da geoprópolis de *Melipona quadrifasciata* (Lepeletier). In: 6ª Jornada científica e tecnológica e 3º Simpósio de Pós- Graduação do IFSULDEMINAS, (Anais), Pouso Alegre/MG, novembro,2014.

CUNHA, M. G. et al. Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geoprópolis. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-9, 2013.

DUALIBE, S. A de C.; GONÇALVES, A. G.; AHID, F. J. M. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* counts in vivo. **Journal of Applied Oral Science**, v. 15, n. 5, p. 420-423, 2007.

DUARTE, S. et al. The influence of a novel própolis on mutans streptococci biofilms and caries development in rats. **Archives of Oral Biology**, v. 51, p.15-22, 2006.

FRANCHIN, M. et al. Bioactive fraction of *Melipona scutellaris* geoprópolis decreases neutrophils migration in inflammatory process: involvement of nitric oxide pathway. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012.

FREITAS, F. de O. **Uso da Palinologia em amostras arqueológicas de Própolis na reconstituição da vegetação histórica de uma região**. 1 ed. Brasília: EMBRAPA, 2002. 17p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 22).

GÓMEZ-CARAVACA, A. M. et al. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.41, p.1220-1234, 2006.

LIBERIO, S. A. et al. Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geoprópolis produced by the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, n. 1, p. 108, 2011.

MARTINS, I. S. et al. Recomendações para o uso adequado de antimicrobianos. Rio de Janeiro: Secretária de Estado de Saúde; 1998 [cited 2007 apr 30]. Available from: <http://www.saude.rj.gov.br/Docs/cecih/Antimicrobianos.doc>.

ORSI, R. O. et al. Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *Salmonella* Typhi. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, n.2, p. 108-112, 2006.

PORTILHO, D. R. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica da própolis produzida no Estado do Tocantins. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.6, n.2, 2013.

SALATINO, A. et al. Origin and chemical variation of Brazilian própolis. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, p. 33-38, 2005.

SOUZA, S.A. et al. Composition and Antioxidant Activity of Geoprópolis Collected by *Melipona subnitida* (Jandaíra) Bees. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-5, 2013.

TEIXEIRA, E.W. et al. Indicadores da origem botânica da própolis, importância e perspectivas. Revisão bibliográfica. **Boletim da Indústria Animal**, v. 60, p. 83-106, 2003.

UMTHONG, S. et al. *In vitro* atividade antiproliferativa de parcialmente purificada *Trigona laeviceps* própolis da Tailândia em linhas de células humanas de câncer. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, p. 37-44, 2011.

VELIKOVA, M. et al. **Chemical composition and biological activity of própolis from Brazilian meliponinae**. Z Naturforsch C, 55c, p. 785-789, 2000.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A criação racional de abelhas constitui-se de uma atividade em que se consegue obter bons resultados econômicos, ecológicos e sociais, atualmente o nordeste principalmente o estado da Bahia apresenta um forte potencial principalmente pela abelha urucu, são poucas ou escassas pesquisas experimentais que visem estudar flora da região local dos Meliponíneos, analisar os constituintes presentes na geoprópolis para desenvolvimento de novos medicamentos, bem como a correlação do parâmetro climático. Neste contexto, a geoprópolis sendo um produto natural tem demonstrado vários tipos de atividades biológicas, que são informações de grande importância para se ter um aumento na produção e exploração racional da Meliponicultura.

A abelha social sem ferrão (*Melipona scutellaris*) teve boa aceitação ao dispositivo coletor de geoprópolis, afirmando o potencial de produção por parte dessas abelhas. A produção da geoprópolis por *M. scutellaris*, no período dos 12 meses de estudo, está correlacionada com as variáveis radiação, vento direção e vento rajada.

As amostras da geoprópolis de *M. scutellaris* coletas na região da Baía do Iguape, Bahia, Brasil, apresentaram carga microbiológica, no entanto, apresentaram ausência microbiológica para microrganismo *Clostridium* sulfito reductores e *Salmonella* sp.

O extrato hidroalcoólico da geoprópolis de *M. scutellaris* demonstrou ser uma fonte natural promissora contra *S. aureus* e *Salmonella* Enteritidis. Concentrações reduzidas de extrato hidroalcoólico da geoprópolis é capaz de inibir o crescimento microbiano.

Este estudo é de grande importância para a Meliponicultura, pois tem um grande apelo econômico, além de contribuir com informações de relevância para a Meliponicultura. Além de ser uma proposta científica voltada para os interesse de indústrias farmacêuticas devido principalmente às suas características biológicas frente à vários microrganismos. Nos últimos anos, a indústria farmacêutica tem procurado por fontes naturais para o desenvolvimento de medicamentos. A geoprópolis de abelhas sociais sem ferrão tem se destacado por seus efeitos farmacológicos.

As perspectivas futuras dependem dos investimentos em organização produtiva, comercialização, pesquisa e desenvolvimento de tecnologias associadas para gerar informações sobre as características do produto associadas às suas condições ambientais. O mercado consumidor exige cada vez mais produtos bem elaborados e de qualidade, por isso que nesse estudo conta com informações que auxiliam no conhecimento da geoprópolis produzidas por espécie de abelha social sem ferrão na região da Baía do Iguape –Bahia.

## **ANEXO A**

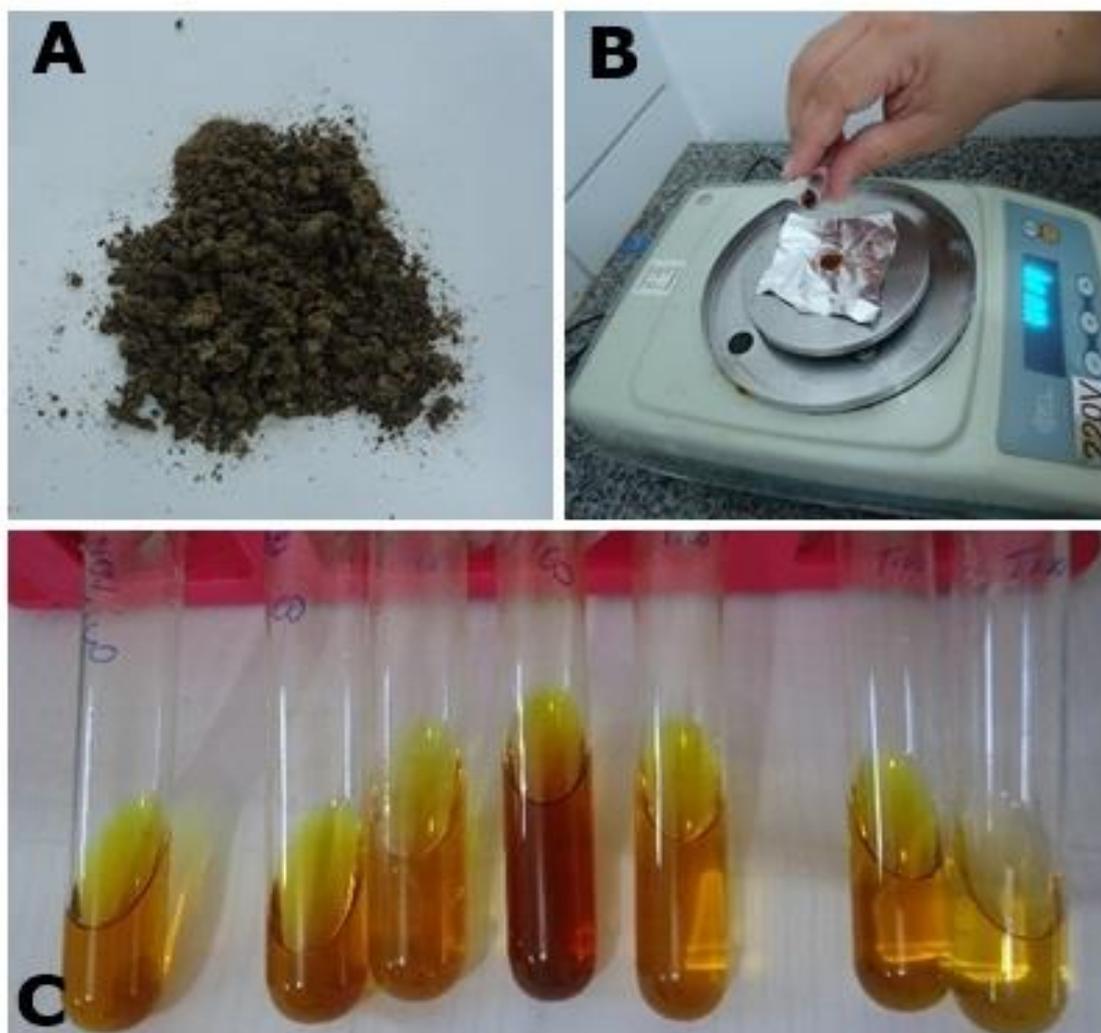


Figura 1– (A) Amostra da geoprópolis “in natura” proveniente da Baía do Iguape-BA. (B) Extrato seco e (C) extrato hidroalcoólico. (Fotografias tiradas pela autora)

## **ANEXO B**

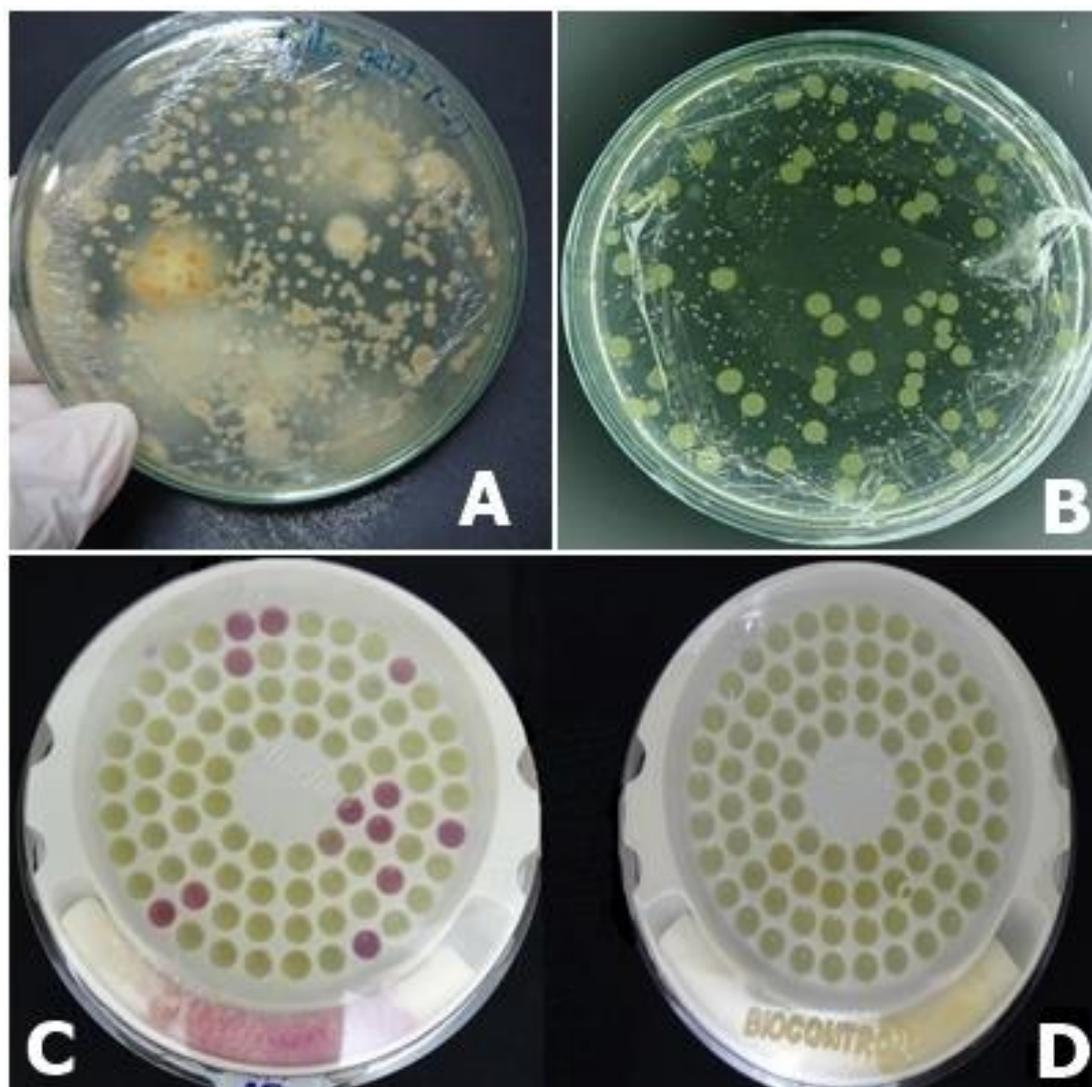


Figura 2 – (A) Mesófilos em placa de Petri, para amostras da geoprópolis proveniente da Baía do Iguape-BA. (B) Psicrotróficos em placa de Petri, para amostras da geoprópolis proveniente da Baía do Iguape. (C) Resultado positivo e negativo (D) coliformes totais, para amostras da geoprópolis proveniente da Baía do Iguape. (Fotografias tiradas pela autora)

## **ANEXO C**

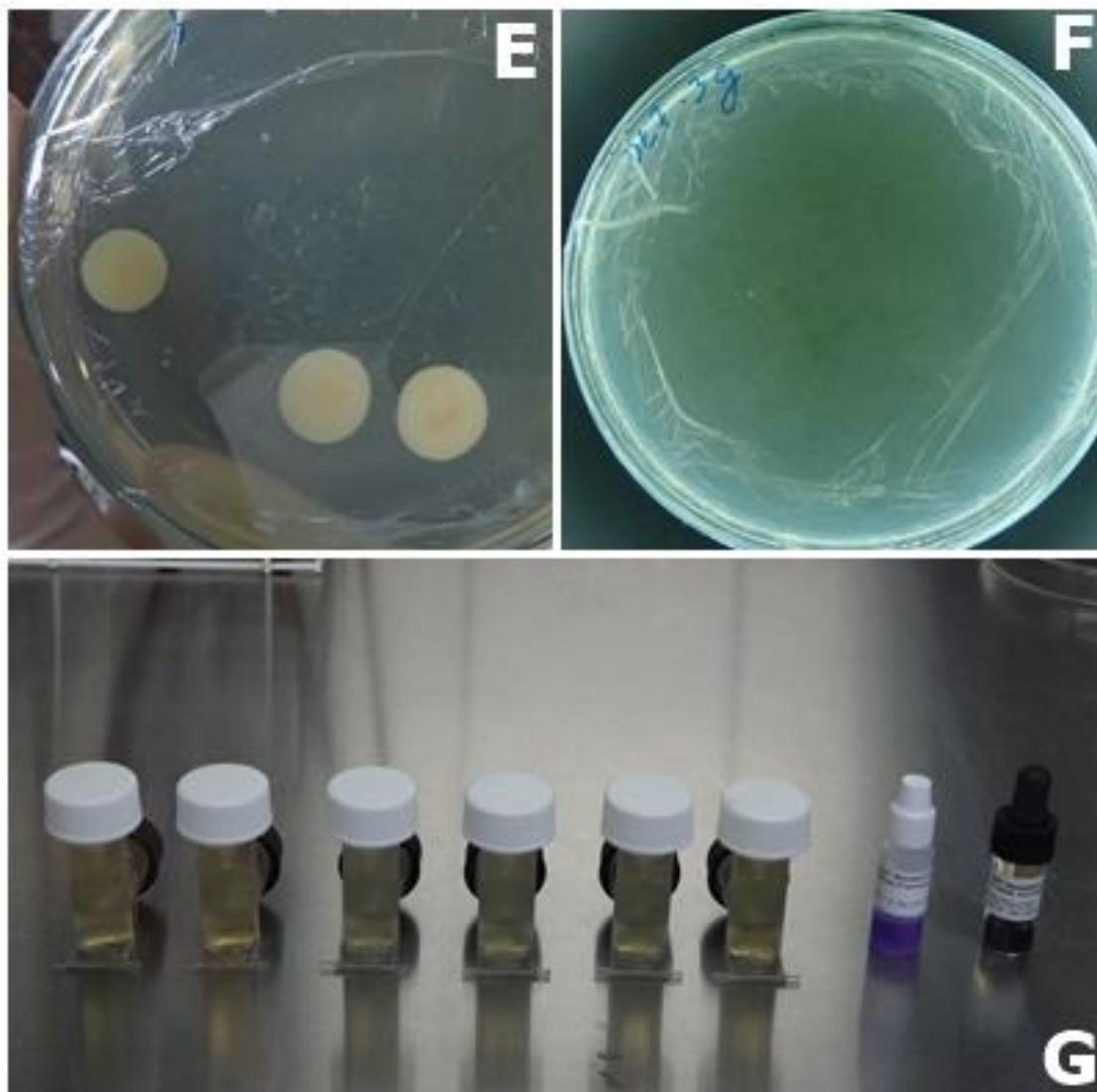


Figura 3– (E) Bolores e Leveduras, para amostras da geoprópolis proveniente da Baía do Iguape -BA. (F) *Clostridium* sulfito redutores, para amostras da geoprópolis proveniente da Baía do Iguape –BA. (G) *Salmonella* sp. negativa, para amostras da geoprópolis proveniente da Baía do Iguape. (Fotografias tiradas pela autora)