

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E A MANUTENÇÃO DA ATIVIDADE COM E SEM O COLETOR DE PRÓPOLIS

Guilherme Coelho Rodrigues¹, Heitor Miranda Batista², Jonierson de Araujo da Cruz³, Hebert Lima Batista⁴

1 Estudante do Curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio – IFTO. Bolsista do Programa de Iniciação Científica IFTO. e-mail: <guilherme.rodrigues4@estudante.ifto.edu.br>

2 Estudante do Curso Técnico de Informática Integrado ao Ensino Médio – IFTO. Bolsista do Programa de Iniciação Científica IFTO. e-mail: <mirandabat.heitor@gmail.com >

3 Docente do Curso Técnico de Informática, de Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio e Superior de Farmácia – IFTO. e-mail: <jonierson.cruz@ifto.edu.br>

4 Docente do Curso Técnico de Informática, de Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio e Superior de Farmácia – IFTO. Orientador(a). e-mail: <batistahebert@ifto.edu.br>

1 INTRODUÇÃO

O própolis é um produto natural de origem resinosa coletado pelas abelhas a partir de diferentes partes de plantas, sendo amplamente utilizado devido às suas propriedades biológicas, incluindo atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante (Bankova et al., 2000; Salatino et al., 2011). Entre esses efeitos, a ação antimicrobiana se destaca pela relevância no combate a microrganismos patogênicos, o que torna o própolis um importante aliado tanto em aplicações medicinais quanto em produtos alimentícios e de higiene (Marcucci, 1995; Kujumgiev et al., 1999).

A composição química do própolis pode variar de acordo com a flora local, a espécie de abelha e até mesmo o método de coleta empregado (Park et al., 2002; Silva et al., 2019). Tradicionalmente, a coleta é realizada por raspagem, porém, técnicas modernas utilizam coletores específicos, que visam otimizar a obtenção do produto e preservar a colônia (Teixeira et al., 2005). Apesar dessas diferenças no processo de obtenção, estudos têm mostrado que a atividade biológica do própolis é mantida, independentemente do método utilizado, garantindo eficácia semelhante contra microrganismos (Castro et al., 2007; Bueno-Silva et al., 2013).

A composição química do própolis pode variar de acordo com a flora local, a espécie de abelha e até mesmo o método de coleta empregado. Tradicionalmente, a coleta é realizada por raspagem, porém, técnicas modernas utilizam coletores específicos, como os coletores de própolis BEEPONA, que visam otimizar a obtenção do produto e preservar a colônia. Os estudos têm mostrado que a atividade biológica do própolis é alterada, garantindo eficácia semelhante contra microrganismos.

2 OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de extratos de própolis obtidos por diferentes métodos de coleta (raspagem e coletor), verificando se o uso do coletor interfere na manutenção de seu potencial biológico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais utilizados são:

Staphylococcus aureus, Vidrarias estéreis: erlenmeyers, béqueres, tubos de ensaio, pipetas graduadas e micropipetas automáticas com ponteiras estéreis, autoclave vertical, estufa bacteriológica (37 °C), refrigerador (4 °C), placas de Petri de vidro, própolis bruto coletado por raspagem e com coletor, etanol 70%, Ágar Mueller-Hinton, cloranfenicol (controle positivo), água destilada estéril.

Metodologia

1. Coleta das amostras

As amostras de própolis foram obtidas a partir de colmeias de *Friesiometita varia*, localizadas no IFTO campus Araguaína-Tocantins. A coleta foi realizada por dois métodos distintos: raspagem tradicional e utilização de coletor de própolis. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em recipientes de vidro estéreis, protegidas da luz e armazenadas sob refrigeração (4 °C) até o processamento.

2. Preparação dos extratos etanólicos de própolis (EEP)

O procedimento adotado foi baseado na metodologia descrita por Matsuda (MATSUDA, 2006) com algumas modificações. Cerca de 5 g de própolis bruta será submetida à extração durante 5 horas em extrator de Soxhlet com 125 mL de etanol. O material final então será filtrado, e posteriormente mantido em congelador com temperatura -20 °C durante 16 horas. Em seguida o conteúdo será novamente filtrado e parcialmente seco sob pressão reduzida. O resíduo será transferido para frascos com massa conhecida e deixados em banho-maria a 60 °C até a massa constante.

Após este período, as soluções foram filtradas em papel de filtro, e o solvente foi evaporado em evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40 °C, obtendo-se o extrato seco. Posteriormente, os extratos foram liofilizados e armazenados em frascos âmbar até o uso.

3. Micro-organismos testados

Foram utilizadas cepas bacterianas de referência, incluindo Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*). As culturas foram mantidas em ágar de (Mueller-Hinton) antes dos ensaios.

4. Avaliação da atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em ágar (técnica do poço), conforme descrito por Batista (2008). Suspensões bacterianas foram padronizadas a 0,5 da escala de McFarland ($\approx 1,5 \times 10^8$ UFC/mL) e semeadas em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton. Com auxílio de um perfurador estéril, foram feitos poços de 6 mm de diâmetro, nos quais foram aplicados 50 µL das soluções de EEP em diferentes concentrações. Como controle positivo, utilizou-se cloranfenicol (30 µg/mL).

As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas e 48 horas, e em seguida os halos de inibição foram medidos em milímetros com paquímetro digital.

5. Análise estatística

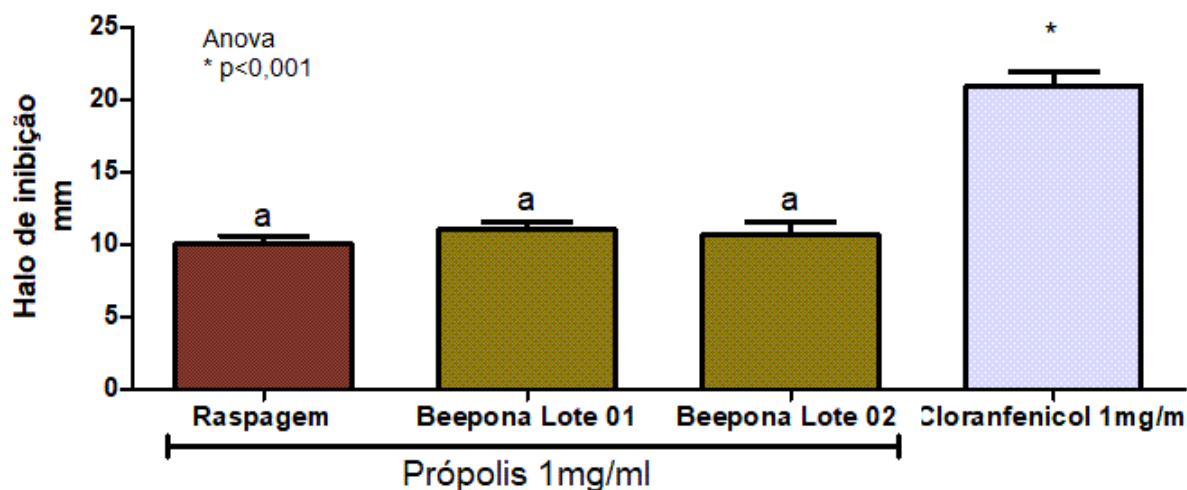
Os ensaios foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão, também foi obtido uma análise farmacognósticas preliminares com uso de metodologia de Cromatografia em Camada Delgada – CCD em fase normal (Sílica Gel-60 F254, Merck) como eluente de fase móvel uma solução de Acetato de Etila:Éter Etílico: Metanol: Ácido Acético (100:17:10:1). Os reveladores utilizados foram $AlCl_3$ e NP-PEG (Natural Products – Polietilenoglicol, solução 10:8 V/V de solução de difenilboriloxietilamina (NP) a 1% em metanol e solução de Polietilenoglicol 4000 (PEG 4000) a 5% em etanol) com análises em Luz Ultravioleta (254 e 365nm) como indicativo de flavonóis. Como revelador universal foi usado vapor de iodo (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2009).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no ensaio de difusão em ágar demonstraram que os extratos etanólicos de própolis, obtidos tanto por raspagem quanto por coletor (Beepopa Lote 01 e Lote 02), apresentaram halos de inibição diferentes, frente a *Staphylococcus aureus* (Figura 1). O extrato proveniente da raspagem apresentou halo médio de aproximadamente **10 mm**, enquanto os extratos dos coletores

Beepopa Lote 01 e Beepopa Lote 02 mostraram valores ligeiramente superiores, próximos de **11 mm** (Figura 1).

Figura 1 – Resultados dos halos de inibição dos extratos de própolis coletadas utilizando coletor Beepopa em caixas de abelhas melíponas do tipo INPA povoada com a espécie *Friseomelitta varia* Lepeletier, 1836 (*Apidae*) comparadas ao método de coleta por raspagem.



Fonte: Autores. Análises estatística com uso de Análises de Variância - Anova, com teste de comparação múltipla de Tukey's, sendo as letras iguais sobre as colunas do gráfico não se diferem estatisticamente.

Em contraste, o antibiótico cloranfenicol (1 mg/mL), utilizado como controle positivo, apresentou halo significativamente maior (≈ 21 mm), evidenciando diferença estatística altamente significativa (ANOVA, $p < 0,001$).

A análise estatística indicou que não houve diferença significativa entre os métodos de coleta de própolis (raspagem versus coletores Beepopa), já que todos os grupos foram designados pela mesma letra (“a”). Esse resultado sugere que a forma de coleta não influencia de maneira expressiva a atividade antimicrobiana frente à cepa testada, corroborando estudos anteriores que demonstram a manutenção da bioatividade do própolis independentemente do método de obtenção (CASTRO et al., 2007; BUENO-SILVA et al., 2013).

Por outro lado, a maior eficácia do cloranfenicol confirma a superioridade de fármacos sintéticos específicos frente às bactérias testadas. Entretanto, o própolis se destaca por ser um produto natural com potencial terapêutico, além de apresentar um amplo espectro de compostos bioativos, como flavonoides e ácidos fenólicos, que podem contribuir para efeitos sinérgicos em aplicações medicinais e preventivas (BANKOVA et al., 2000; SALATINO et al., 2011).

Dessa forma, os resultados apontam que, apesar de apresentar halos de inibição inferiores ao antibiótico, o própolis manteve uma atividade antimicrobiana relevante, o que justifica seu potencial uso em formulações farmacêuticas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no ensaio de difusão em ágar demonstraram que os extratos etanólicos de própolis, obtidos tanto por raspagem quanto por coletor (Beepopa Lote 01 e Lote 02), apresentaram halos de inibição diferentes, frente a *Staphylococcus aureus* (Figura 1). O extrato proveniente da raspagem apresentou halo médio de aproximadamente **10 mm**, enquanto os extratos dos coletores Beepona Lote 01 e Beepona Lote 02 mostraram valores ligeiramente superiores, próximos de **11 mm**.

Em contraste, o antibiótico cloranfenicol (1 mg/mL), utilizado como controle positivo, apresentou halo significativamente maior (\approx **21 mm**)

Dessa forma, os resultados apontam que, o própolis coletado por coletor gera halos levemente maiores do que quando comparado com o método de raspagem, mas de mesma maneira, ambos são inferiores ao clorofenicol.

Não utilize esta seção para sumarizar os resultados, mas para apontar as principais conclusões do trabalho, respondendo à pergunta da pesquisa e verificando se os objetivos propostos foram alcançados. Também é possível apontar limitações do estudo e enfatizar o impacto gerado pelo trabalho e as limitações que persistem.

6 AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao IFMAKER do Campus Araguaína, ao CNPq e IFTO pelo fomento e apoio na execução do projeto e concessão de bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS

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

SOUZA, E. A.; INOUE, H. T.; FERNANDES JÚNIOR, A.; VEIGA, N.; ORSI, R. O. Influence of seasonality and production method on the antibacterial activity of propolis. *Brazilian Journal of Biology*, v. 74, n. 1, p. 1–6, 2014.

GONSALES, G. Z.; ORSI, R. O.; FONSECA, M. J. V.; RODRIGUES, P.; CUNHA, I. C.; et al. Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, v. 12, n. 2, p. 276–284, 2006.

BATISTA, H. L. Propriedades físico-químicas e biológicas de amostras de própolis da região do Cariri, Ceará. 2008. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

MATSUDA, A. H. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de própolis frente a diferentes microrganismos. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2006.