

Avaliação físico-química e aplicação da geoprópolis no desenvolvimento de sabonete líquido

Physical-chemical analyzes and development of soap from geopropolis

Luiza Naemi Koga Zapotoski¹, Laura Miwa Hirakawa Baldassi², Luan Felipe da Silva Calixto³, Simone Bowles⁴, Maria Carolina de Oliveira Ribeiro⁵

RESUMO

Produzida pelas abelhas nativas, sem ferrão, a geoprópolis é um produto que vem sendo muito estudado. Sua composição é formada pela própolis, ceras e resinas, normalmente encontradas por outras espécies de abelhas, mas seu grande diferencial é ser composto também de terra ou barro. As melíponas normalmente o produzem para a vedação da colmeia. E assim como a própolis, muitos estudos vêm sendo desenvolvidos acerca das suas propriedades terapêuticas, antimicrobianas e em relação ao seu comportamento em diferentes regiões de produção, tendo em vista que o clima e região de produção podem alterar sua composição. O presente estudo tem como objetivo principal realizar a análise físico-química da geoprópolis da região de Ponta Grossa - PR e testar sua aplicabilidade como princípio ativo em sabonete líquido para as mãos. Para o teste antimicrobiano foi realizado o método disco-difusão do sabonete frente a bactérias Gram positivas do gênero *Staphylococcus spp.*. Após as análises foi observada uma provável influência do clima na sua composição, assim como resultados positivos para o teste antimicrobiano, mostrando um grande potencial de aplicabilidade em produtos de higiene e sanitizantes.

PALAVRAS-CHAVE: abelha; antibacteriano; geoprópolis; sabonete.

ABSTRACT

Produced by native, stingless bees, geopropolis is a product that has been extensively studied. Its composition is made up of propolis, waxes and resins, normally found by other species of bees, but its biggest difference is that it is also composed of clay. Melipona normally produces it to seal the hive. And just like propolis, many studies have been developed regarding its therapeutic and antimicrobial properties and in relation to its behavior in different production regions, considering that the climate and production region can change its composition. The main objective of the present study is to carry out the physical-chemical analysis of geopropolis from the region of Ponta Grossa - PR and test its applicability as an active ingredient in liquid hand soap. For the antimicrobial test, the soap's disc-diffusion method was carried out against Gram positive bacteria of the genus *Staphylococcus spp.*. After the analysis, a probable influence of the climate on its composition was observed, as well as positive results for the antimicrobial test, showing a large potential for applicability in hygiene and sanitizing products.

KEYWORDS: bee; antibacteria; geopropolis; soap.

INTRODUÇÃO

As abelhas nativas, também conhecidas como melíponas e abelhas sem ferrão, são prevalentes nas regiões tropicais e subtropicais, sendo mais encontradas na América do Sul (SOUZA, 2012). Elas não apenas produzem os produtos popularmente conhecidos

¹ Bolsista voluntária da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: luizazapotoski@alunos.utfpr.edu.br

² Bolsista voluntária da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: laurabaldassi@alunos.utfpr.edu.br

³ Bolsista voluntário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: luancalixto@alunos.utfpr.edu.br

⁴ Docente no Curso Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia/DAEBB. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: simonebowles@professores.utfpr.edu.br

⁵ Docente no Curso Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia/DAEBB. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: carolina@utfpr.edu.br. ID Lattes: 3261695828340553

como o própolis e mel, mas também produzem o geoprópolis, que se distingue em sua composição que é constituída não somente de própolis, ceras e resinas, como também de maneira intrínseca apresenta terra ou barro. Este produto desempenha um papel essencial na vedação de suas colmeias (SFORCIN *et al*, 2017).

Estudos têm confirmado os efeitos terapêuticos, anti-inflamatórios e antimicrobianos da própolis. Como resultado, pesquisas significativas estão sendo conduzidas sobre a geoprópolis, analisando fatores como a estação e região de produção, que influenciam sua composição (ARAÚJO *et al.*, 2013). Além disso, muitas pesquisas destacam a eficácia antimicrobiana da geoprópolis contra bactérias Gram positivas, como *Staphylococcus spp.*, e Gram negativas, como *Escherichia spp.* e *Salmonella spp.* Nos dias de hoje, analisando a demanda por "clean beauty" (beleza limpa) no mercado de cosméticos e produtos de higiene, onde tanto as marcas quanto os consumidores estão focados na saúde e nas questões ambientais relacionadas à produção de produtos (CARE NB, 2022), o presente trabalho busca avaliar as características físico-químicas da geoprópolis e aplicar seu extrato na formulação de um sabonete líquido para as mãos.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado em duas etapas, a primeira destinada a avaliação dos potenciais físico-químicos presentes na geoprópolis, onde foi quantificado o teor de ceras, teor de umidade e teor de cinzas. E a segunda parte foi utilizada para realizar o desenvolvimento do sabonete líquido e os testes antimicrobianos. A matéria prima utilizada foi coletada em novembro/2022 no Meliponário São Miguel, localizado na cidade de Ponta Grossa.

O teor de umidade e cinzas foram avaliados baseados nos protocolos propostos pelo o Instituto Adolfo Lutz (1985), a umidade foi por secagem direta em estufa a 105°C, O teor de cinzas foi obtido a partir do término da secagem, nas condições em mufla de 4 horas a 550°C.

Para o teor de ceras foi utilizado o protocolo de misturas mecânicas proposto por SOUZA (2014), onde 1 g do geoprópolis triturado foi misturado com 15 mL do solvente clorofórmio-acetona 2:1 (v/v), a mistura foi agitada manualmente por 2 minutos e deixada em repouso por 1 hora. Após esse tempo ela foi filtrada em papel de filtro qualitativo e este foi levado à estufa por 2 horas a 80°C. Após a secagem foi realizada a pesagem do papel com o resíduo de cera.

PREPARO DO EXTRATO

Para a obtenção do extrato de geoprópolis nas concentrações desejadas, a amostra depois de pesada e macerada foi dissolvida com etanol a 70% para obtenção dos extratos nas concentrações de 10, 30, 50 e 70%. Após isso, os extratos foram mantidos em banho de ultrassom a 26°C durante 30 minutos, em seguida foi realizada uma filtração em papel de filtro e o extrato foi armazenado em frasco âmbar sob refrigeração. Para a formulação do sabonete líquido, os extratos de geoprópolis nas concentrações de 30%, 50% e 70% foram processados uma vez no rotaevaporador na temperatura de 37° C, por 30 minutos e rotação de 30 rpm.

FORMULAÇÃO DO SABONETE

Para o desenvolvimento do sabonete líquido, os extratos concentrados de 30, 50 e 70% foram empregados como princípio ativo, nas concentrações de 5, 10 e 15% na formulação base.

Tabela 1 - Proporção da formulação para preparo de 100 mL de sabonete

| | Quantidade (g) para 100 mL de sabonete | |
|-----------------|--|----|
| Lauril | | 21 |
| Amida 60 | | 4 |
| Princípio ativo | 5% | 5 |
| | 10% | 10 |
| | 15% | 15 |

Fonte: Autoria própria (2023)

Após a adição do extrato, foi completado o volume de 100 mL com água destilada e então ajustado o pH com ácido cítrico para chegar ao pH 7,0. Após o preparo, os sabonetes foram armazenados em tubos Falcons esterilizados sob refrigeração.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As cepas foram selecionadas de acordo com a RDC Nº 774, de 15 de fevereiro de 2023 - ANVISA -resolução que dispõe as condições para o registro e a rotulagem de produtos saneantes com ação antimicrobiana. Bactérias Gram positivas do gênero *Staphylococcus spp.* estão comumente relacionadas com infecções de pele (ANVISA, 2020) e para isso são regularmente testadas frente a agentes antimicrobianos. Assim foram escolhidas para o teste as bactérias *Staphylococcus aureus* (CMIB 057) e *Staphylococcus epidermidis* (CMIB228), ambas cedidas pelo banco de cepas da Coleção Microbiológica de Interesse Biotecnológico (CMIB - UTFPR-PG). A reativação das bactérias foi realizada em meio de cultivo TSA e incubação por 48 horas a 37°C.

O teste foi realizado pelo método disco-difusão de acordo com o protocolo definido pelo Manual de Microbiologia Clínica Para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde, publicado pela ANVISA (2020). O teste consiste na deposição de discos de papel de filtro qualitativo, impregnados com o produto antimicrobiano a ser testados, em placas semeadas com a bactéria de interesse. O agente antimicrobiano se difunde no meio de cultura em que a bactéria foi semeada e a avaliação é realizada de acordo com a formação, ou não, de halo de inibição ao redor dos discos.

A primeira etapa do ensaio consistiu na dispersão da bactéria, reativada com 48 horas de antecedência, em solução salina esterilizada a 0,85% (p/v) a fim de se obter o equivalente a uma solução padrão 0,5 na escala de McFarland. As placas com meio de cultura TSA foram semeadas de modo homogêneo com o auxílio de um swab estéril e após a secagem com uma pinça estéril, os discos de papel de filtro esterilizados foram depositados em triplicata. Em seguida, sobre sua superfície, foram dispensados 6 µL do sabonete líquido preparado com os extratos de 30, 50 e 70% nas concentrações de 5, 10 e 15%. Ao final, as placas foram incubadas por 48 horas a 37°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

De acordo com PANDOLFO (2014) o teor de ceras é um indicativo relacionado com as condições climáticas da região que a colmeia se encontra, uma vez que as

abelhas podem incorporar mais cera durante os períodos em que as resinas são escassas ou de difícil coleta e períodos em que a vedação da colmeia deve ser maior, como no inverno. Além disso, pode-se relacionar a quantidade de cera com a quantidade de compostos bioativos presentes na amostra, quanto menor for o teor de ceras indica que há mais bálsamos e resinas, onde são encontrados os compostos. O percentual de cera obtido foi de 69,87%, é justificável visto que a amostra foi coletada na cidade de Ponta Grossa - PR, localizada na região Sul do país, uma região mais fria e que a tendência das abelhas é uma maior produção de ceras em climas mais frios.

O teor de umidade obtido foi de 6,31% , este valor pode estar relacionado com a região em que o geoprópolis está depositada na colmeia, já que sua função é a vedação estando em maior contato com o ambiente externo . Além disso, é possível afirmar que as amostras estão dentro do padrão de controle de qualidade para a própolis do EMBRAPA (2020) permitido para a quantidade de umidade que é de 8%. O teor de cinzas é um indicativo dos minerais totais, porção residual, pode ser relacionado com a quantidade de resina presente na geoprópolis (FERREIRA, 2018). O valor obtido na amostra analisada foi de 49,66%.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Para a análise da atividade antimicrobiana, foi necessário realizar a concentração dos extratos de geoprópolis no rotaevaporador, pois testes preliminares sem a concentração do extrato apresentaram apenas ação bacteriostática, assim visando uma ampla inibição bacteriana, o extrato de geoprópolis a 30% foi concentrado em 21,78%, o de 50% em 34,49% e o de 70% em 41,83%, concentrações obtidas por cálculo de massa antes e após o processamento no rotaevaporador. Após a formulação do sabonete líquido o teste foi realizado e então feita uma análise comparativa entre as inibições à *S. aureus* e *S. epidermidis*, como apresenta a Tabela 2.:

Tabela 2 - Média dos diâmetros dos halos de inibição do sabonete frente às bactérias

| Tratamento | <i>S. aureus</i> | <i>S. epidermidis</i> |
|--------------------|------------------|-----------------------|
| Ext 30% - P.A.:5% | 177 ± 10 aA | 167 ± 8 bA |
| Ext 30% - P.A.:10% | 93 ± 42 bA | 195 ± 44 abA |
| Ext 30% - P.A.:15% | 107 ± 6 abA | 185 ± 38 abA |
| Ext 50% - P.A.:5% | 130 ± 10 abA | 202 ± 43 abA |
| Ext 50% - P.A.:10% | 63 ± 15 abB | 188 ± 13 abA |
| Ext 50% - P.A.:15% | 93 ± 6 bB | 182 ± 20 abA |
| Ext 70% - P.A.:5% | 178 ± 33 bA | 252 ± 15 abA |
| Ext 70% - P.A.:10% | 112 ± 28 aB | 267 ± 31 aA |
| Ext 70% - P.A.:15% | 173 ± 45 abA | 180 ± 36 abA |

Fonte: Autoria própria (2023)

*Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha, significam diferença significativa entre as médias a 95% de confiança.

A análise dos resultados da atividade antimicrobiana foi realizada estatisticamente pela ANOVA e pelo pós-teste de Tukey. Através da variância entre as médias dos halos

de inibição foi comparado os tratamentos entre si e avaliado se existe diferença, estatística, entre eles. Foram utilizadas as denominações: “a”, “b” e “ab” para indicar quais tratamentos são semelhantes entre si, como é possível observar na tabela 2.

O teste foi aplicado para comparar as diferentes concentrações da formulação do sabonete líquido frente a *S. aureus*, indicado pelas letras minúsculas na tabela para esta bactéria, foi possível observar que as formulações com extrato (ext) de 30% com 15% de princípio ativo (P.A.) não apresentou diferenças significativas, no poder de inibição comparado com os sabonetes contendo ext de 50%- P.A. 5%, ext 50%- P.A. 10% e ext 70%- P.A.15%. No comparativo dos sabonetes frente a *S. epidermidis*, é possível observar que há diferenças significativas das amostras ext 30% - P.A. 5% e ext 70% - P.A. 10% entre elas e as demais, os outros sabonetes testados não apresentaram diferenças significativas entre si. Já comparativo da ação entre as duas bactérias, indicado pelas letras maiúsculas na tabela, foi observado que apenas os sabonetes preparados com ext 50% - P.A. 10%, ext 50% - P.A. 15% e ext 70% - P.A. 10% possuem diferenças significativa do poder antimicrobiano entre as bactérias testadas, ou seja, para uma bactéria ele pode ser mais eficaz que para a outra.

Assim, através das comparações é possível concluir que o sabonete formulado com o extrato na concentração de 30% contendo 15% de princípio ativo possui um grande potencial, pois além dele não apresentar diferenças significativas na ação antimicrobiana comparado com os sabonetes formulados com concentrações maiores, ele também não apresentou diferença entre as bactérias, reduzindo seu custo para a produção, pois necessita menores quantidades da matéria prima para produção do extrato e sabonete. Levando altamente em consideração que o controle negativo, formulação do sabonete sem princípio ativo, teve crescimento de ambas as bactérias.

De acordo com as normas do Manual de Microbiologia Clínica Para o Controle De Infecção Relacionada À Assistência À Saúde, publicado pela ANVISA (2020), para os testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), os microrganismos utilizados no experimento, por definição são classificados como sensíveis, ou seja, possuem sensibilidade ao agente testado, tendo uma grande probabilidade de sucesso terapêutico com o agente. Assim, é possível afirmar que os sabonetes produzidos com o extrato de geoprópolis apresentam atividade antimicrobiana.

CONCLUSÃO

Através das análises físico-químicas realizadas no presente estudo, foi possível observar, realizando um comparativo com dados teóricos, como a região de produção e o clima interferem na composição da geoprópolis. Além disso, através da formulação do sabonete utilizando o extrato de geoprópolis como princípio ativo, foi observado que ele possui atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram positivas testadas. Assim, é possível indicar uma perspectiva para aplicação deste produto que acaba sendo, na maioria das vezes, descartado nos meliponários.

Agradecimentos

Agradecimento à Universidade Tecnológica Federal do Paraná que forneceu os subsídios necessários para a realização da pesquisa e ao Meliponário São Miguel que forneceu o geoprópolis para estudo.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, M. J. A .DE MELIPONA FASCICULATA SMITH: AÇÕES CITOTÓXICA; DISSERTAÇÃO, 2013. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/104554/araujo_mjam_dr_botfm.pdf?sequence=1&isAllowed=y

CARE NB, Clean Beauty: conheça a tendência da beleza limpa. Disponível em: <https://carenb.com/blogs/beauty-journal/clean-beauty-conheca-a-nova-tendencia-de-beleza-limpa-1>

CONTROLE DE QUALIDADE DA PRÓPOLIS – EMBRAPA, 2020. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/220624/1/Doc268-Controle-Qualidade-Propolis-AINFO-1.pdf>

DE MICROBIOLOGIA CLÍNICA, M. 10 –. D. DOS P. M. DE R. B. A. A. P. L. MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE - ANVISA, 2020 Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-10_manual-de-microbiologia.pdf

FERREIRA, Bruno Luís. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA GEOPRÓPOLIS PRODUZIDA POR ABELHAS SEM FERRÃO NO ESTADO DE SANTA CATARINA. Florianópolis, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/214247/PCAL0433-D.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>

MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS PARA ANÁLISE DE ALIMENTOS - INSTITUTO ADOLFO LUTZ, SÃO PAULO, 2008. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf

Ministério da Saúde -MS Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, 2023. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6555127/RDC_774_2023_.pdf/d86ad4f5-d0d2-468c-ae27-22897663b2ac

PANDOLFO, V. Z. Caracterização e efeito da variação sazonal da própolis orgânica produzida no sul do Brasil. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-05012015-154728/publico/Valeria_Zatarin_Pandolfo_versao_revisada.pdf

SFORCIN, J. M. et al. Própolis e geoprópolis: uma herança das abelhas. [s.l.] Editora UNESP, 2017.

SOUZA, J. Extração e caracterização de dois tipos de própolis: verde (mineira) e vermelha (alagoana), Belo Horizonte, 2014. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-B3PH8V/1/disserta_o_mestrado_propolis_verde_e_vermelha.pdf

SOUZA, S. A. ESTUDO QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA GEOPRÓPOLIS DA ABELHA SEM FERRÃO JANDAIRA, Pernambuco, 2012. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede/bitstream/tede2/6374/2/Silvana%20Alves%20de%20Souza.pdf>