

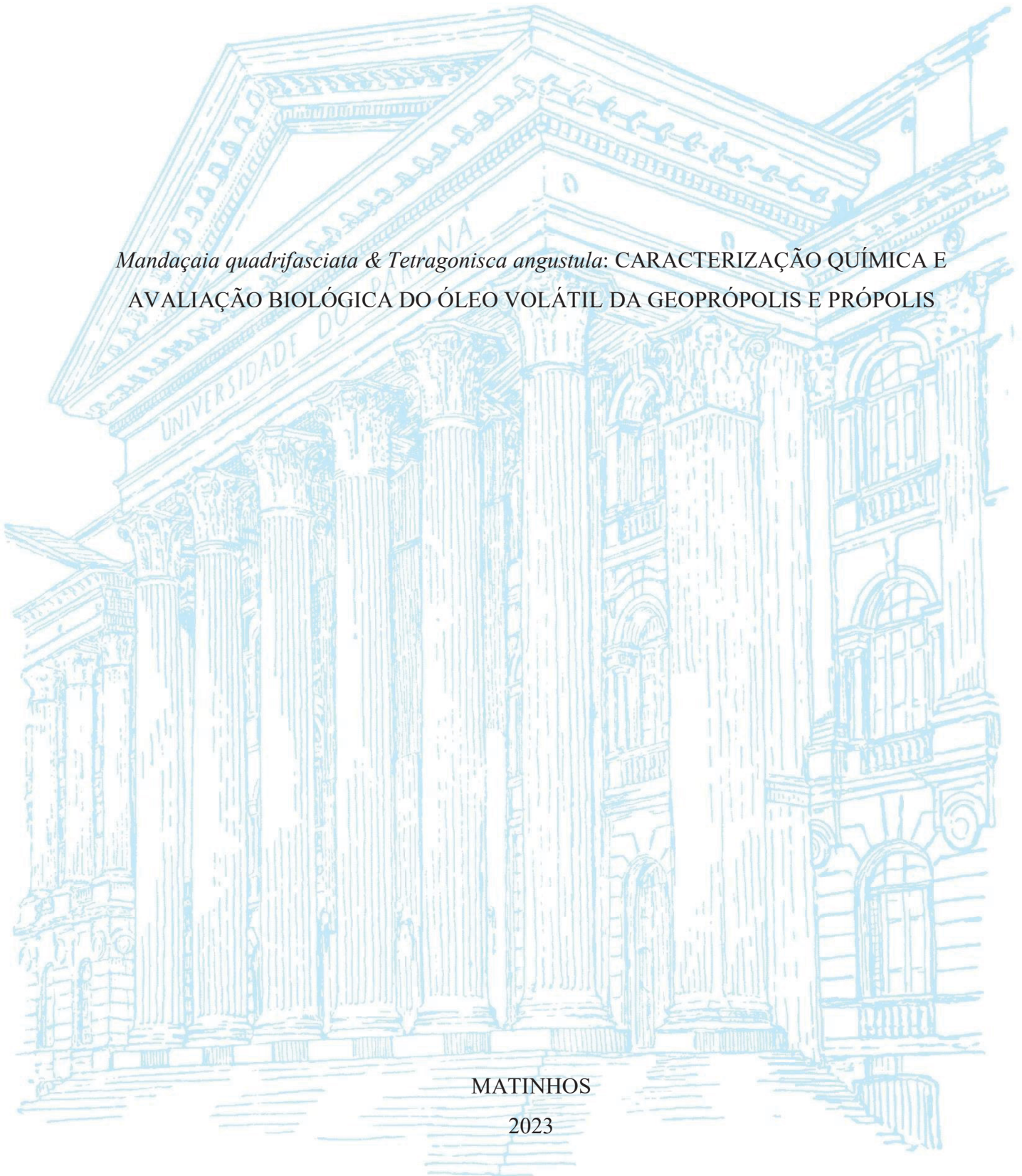
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MAURA LINS DOS SANTOS

Mandaçaia quadrifasciata & Tetragonisca angustula: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E
AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS

MATINHOS

2023



MAURA LINS DOS SANTOS

Mandaçaia quadrifasciata & Tetragonisca angustula: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E
AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Desenvolvimento Territorial
Sustentável da Universidade Federal do Paraná -
Setor Litoral como requisito parcial para obtenção
do grau de Mestre em Desenvolvimento Territorial
Sustentável.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Everson da Silva

MATINHOS

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte
Biblioteca Universidade Federal do Paraná - Setor Litoral

S237 Santos, Maura Lins dos
Mandaçaia quadrifasciata & *Tetragonisca angustula*: caracterização química e avaliação biológica do óleo volátil da geoprópolis e própolis / Maura Lins dos Santos; orientador Luiz Everson da Silva. – 2023.
109 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná - Setor Litoral, Matinhos/PR, 2023.

1. Abelhas. 2. Própol. 3. Geoprópolis. I. Dissertação (Mestrado) – Programa de Mestrado em Desenvolvimento Territorial Sustentável. II. Título.

CDD – 595.79



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR LITORAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DESENVOLVIMENTO
TERRITORIAL SUSTENTÁVEL - 40001016081P3

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação DESENVOLVIMENTO TERRITORIAL SUSTENTÁVEL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MAURA LINS DOS SANTOS** intitulada: **Mandaçaia quadrifasciata & Tetragonisca angustula: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS**, sob orientação do Prof. Dr. LUIZ EVERSON DA SILVA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

MATINHOS, 27 de Setembro de 2023.

Assinatura Eletrônica

31/10/2023 17:50:08.0

LUIZ EVERSON DA SILVA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

01/11/2023 10:44:54.0

GILSON WALMOR DAHMER

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

04/11/2023 20:00:12.0

PAULO HENRIQUE CARNEIRO MARQUES

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

RUA JAGUARIAÍVA, 512 - MATINHOS - Paraná - Brasil

CEP 83260-000 - Tel: (41) 3511-8371 - E-mail: ppgdts@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 325162

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 325162

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Deus criador, por sempre me sustentar dando-me forças pra continuar, em meio aos desafios me fortalece e me abençoa.

Ao Bioquímico Renato Rau por me oportunizar o conhecimento do mundo das Abelhas Nativas.

Agradeço ao meu orientador Dr. Luiz Everson, pelo amparo na pesquisa e incentivo de continuidade da pesquisa em torno das abelhas nativas, igualmente pela provisão de recursos que me possibilitaram realizar esta pesquisa.

Aos meliponicultores participantes da pesquisa, pela confiança me assegurando livre acesso aos seus meliponários, pela troca de conhecimentos incríveis.

Ao Eng. Agrônomo Carlos Faias pelo acompanhamento e suporte nesta pesquisa, pelo apoio no desenvolvimento de metodologia de extração de óleo volátil da geoprópolis e própolis das abelhas nativas.

Ao Prof. Dr Luciano Huergo pelo suporte e ensinamentos em microbiologia, bem como Análises Biológicas.

A Gestora Ambiental Maria Vanaina Gonçalves, pelo aprendizado e suporte nas Análises Biológicas.

À Doutoranda Jhenifer Araújo, pela contribuição e ensinamentos nas análises de cromatografia.

Aos técnicos do laboratório do setor da UFPR do Setor Litoral, pelo apoio e suporte de uso dos materiais e equipamentos.

Agradeço ao Dr. Ricardo Rebelo da Furb e a Doutoranda Sara Castro, pelas contibuições e aprendizado nas nas análises de cromatografia.

À Dr^a. Beatriz Maia, pelo contribuições nas técnicas de análises de cromatografia das amostras.

À Prof^a e Dr^a Izabel Vidotti e Doutoranda Renata Sanches, igualmente pelo suporte técnico nas análises de cromatografia das amostras.

Ao minha 2º mãe Maria C. R. Lopes e seu filho Randerson J. Lopes, pelo amparo de permanência nesta pesquisa.

À Sueli de Paula, pelos conselhos e reflexões que me acalmaram e me incentivaram a continuar.

RESUMO

A meliponicultura é a criação racional das abelhas nativas. Esta atividade propicia a conservação das espécies, a manutenção da biodiversidade nos ecossistemas naturais e contribui igualmente para o aumento da produtividade de culturas. As abelhas nativas atuam não só como polinizadoras, mas também fornecem produtos com propriedades medicinais como: a cera, o mel e a própolis. Dentre esses produtos se destaca a própolis utilizada para a proteção e defesa da colméia são produzidas pelas abelhas através da resina das árvores e enzimas salivais das abelhas. O presente trabalho objetivou-se em fortalecer a etnoprospecção, identificar as propriedades e princípios ativos deste recurso biológico, bem como a construção participativa do desenvolvimento sustentável através do comércio da própolis, buscando a conservação da biodiversidade regional e igualmente fortalecer a socioeconomia das comunidades localizadas no Litoral Paranaense. Este objetivo se desdobrou em investigar o potencial biológico e composição química do óleo essencial da própolis das espécies nativas: *Mandaçaia quadrifasciata* e *Tetragonisca angustula*. Este estudo compreendeu os municípios de Guaratuba, Morretes e Paranaguá, localizados no Litoral Paranaense e onde foram coletadas amostras da geoprópolis e própolis com propósito de fazer a extração do óleo volátil. Desenvolveu-se uma metodologia para extração dos óleos voláteis das amostras, bem como aplicação de técnica desenvolvida para maior rendimento. Além disso, foram realizados ensaios antibacterianos frente às cepas bacterianas *Escherichia coli* NCM 3722 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 no período Outono/Inverno e Verão, grande parte dos resultados foram satisfatório, apresentando um halo de inibição entre 7mm e 11mm que confirmaram o potencial antimicrobiano. Realizou-se a análise química por cromatografia gasosa e espectrometria de massas afim de determinar a composição química. Os resultados indicaram a presença dos compostos majoritários: β -bisaboleno como principal constituinte, seguido de (*E*), cariofileno, ar-curcumeno, α -copaeno e α -pineno. A atividade moduladora da combinação do Própolis (PMq) e do óleo essencial (EOPMq) de abelha nativa da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* com gentamicina, neomicina e canamicina contra cepas bacterianas gram-positivas e gram-negativas revelaram o potencial tanto do óleo como do extrato da própolis como potencializadores de atividade antibiótica. A presente pesquisa revelou o potencial dos subprodutos das espécies das abelhas estudadas, e contribuiu para fortalecer estudos de etnoprospecção no intuito de identificar propriedades e princípios ativos de recursos biológicos através do conhecimento tradicional, gerando conhecimento científico e contribuindo para a conservação da diversidade biológica local.

Palavras Chaves: Abelhas Nativas; Análise Química; Litoral do Paraná; Própolis.

ABSTRACT

Meliponiculture is the rational breeding of native bees. This activity promotes the conservation of species, the maintenance of biodiversity in natural ecosystems and also contributes to increasing crop productivity. Native bees not only act as pollinators, but also provide products with medicinal properties, such as wax, honey and própolis. Among these products is própolis, which is used to protect and defend the hive. It is produced by bees from tree resin and bee salivary enzymes. The aim of this work was to strengthen ethnopropecting, identify the properties and active principles of this biological resource, as well as the participatory construction of sustainable development through the própolis trade, seeking to conserve regional biodiversity and also strengthen the socio-economy of communities located on the coast of Paraná. This objective involved investigating the biological potential and chemical composition of the essential oil of própolis from the native species: *Mandaçaia quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula*. This study covered the municipalities of Guaratuba, Morretes and Paranaguá, located on the coast of Paraná, where samples of geoprópolis and própolis were collected for extraction of the volatile oil. A methodology was developed for extracting the volatile oils from the samples, as well as the application of the technique developed for greater yield. In addition, antibacterial tests were carried out against the bacterial strains *Escherichia coli* NCM 3722 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in the fall/winter and summer periods, most of the results were satisfactory, presenting an inhibition halo between 7mm and 11mm that confirmed the antimicrobial potential. This study carried out chemical analysis by gas chromatography and mass spectrometry. The results of the chemical evaluation were promising, resulting in the majority compounds β -Bisabolene as the main constituent, followed by (E)-Caryophyllene, α -Curcumene, α -Copaene and α -Pinene. The modulating activity of the combination of própolis (PMq) and essential oil (EOPMq) from the native bee species *Mandaçaia quadrifasciata* with gentamicin, neomycin and kanamycin against gram-positive and gram-negative bacterial strains revealed the potential of both the oil and the própolis extract as antibiotic activity enhancers. The results of the analysis of antimicrobial activity, yield of volatile oil from geoprópolis and própolis and chemical composition, aims to highlight the potential of the by-products of the bee species studied, in order to strengthen ethnopropecting studies so that it is increasingly possible to identify the properties and active principles of biological resources through traditional knowledge, generating scientific knowledge and contributing to the conservation of local biological diversity.

Keywords: Native Bees; Chemical Analysis; Paraná Coast; Própolis.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	29
FIGURA 2 – IDENTIFICAÇÃO DA ABELHA <i>Tetragonisca angustula</i>	30
FIGURA 3- CHEGADA NA COLÔNIA DA ESPÉCIE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i> COM RESINA DAS PLANTAS NAS CORBÍCULAS.....	31
FIGURA 4- CHEGADA NA COLÔNIA DA ESPÉCIE <i>Tetragonisca angustula</i> COM RESINA DAS PLANTAS NAS CORBÍCULAS.....	32
FIGURA 5- PONTOS DE COLETAS DAS AMOSTRAS DE GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS NO LITORAL PARANAENSE.....	39
FIGURA 6 - FLUXOGRAMA DE PROCESSO DA PESQUISA.....	40
FIGURA 7- PRÓPOLIS DA ESPÉCIE MANDAÇAIA QUADRIFASCIATA NA CAIXA RACIONAL.....	42
FIGURA 8- PRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>Tetragonisca angustula</i> NA CAIXA.....	43
FIGURA 9- ARMAZENAMENTO DA PRÓPOLIS COLETADAS.....	43
FIGURA 10- PESAGEM DA GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS.....	46
FIGURA-11 HOMOGENEIZAÇÃO LB.....	46
FIGURA 12- FIGURA 12- LA-BACTÉRIA <i>E.coli</i>	47
FIGURA 13- AUTOCLAVE.....	47
FIGURA 14 – TS BACTÉRIA <i>S.aureus</i>	47
FIGURA 15- AGITADOR.....	47
FIGURA 16 – MICROPLACA PARA ANÁLISE DO (DENSIDADE ÓTICA).....	48
FIGURA 17 - APARELHO INFINITE NANO- TECAN.....	49
FIGURA18- PROGRAMA I CONTROL 2.0.....	49
FIGURA19-DILUIÇÃO DA LB E TS.....	50
FIGURA 20- TAPETE ÁGAR.....	50
FIGURA 21- CABINE DE FLUXO LAMINAR NÍVEL II.....	50
FIGURA 22-ESTUFA DE CULTURA BACTERIOLÓGICA.....	50
FIGURA 23 - COLONIAS ISOLADAS DE BACTÉRIAS.....	51
FIGURA 24 -PLACAS DE BACTÉRIAS PRONTAS.....	51
FIGURA 25 –PAQUIMETRO.....	51
FIGURA 26 – GEOPRÓPOLIS NA CAIXA DE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	56
FIGURA 27 - GEO.....	57
FIGURA 28 – VEGETAÇÃO.....	57
FIGURA 29 - PRÓPOLIS NA CAIXA ESPÉCIE <i>Tetragonisca angustula</i>	57
FIGURA 30 – GEOPRÓPOLIS NA CAIXA DE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	58

FIGURA 31– GEO.....	58
FIGURA 32-VEGETAÇÃO.....	59
FIGURA 33 - PRÓPOLIS NA CAIXA ESPÉCIE <i>Tetragonisca angustula</i>	60
FIGURA 34 – FOTO GEOPRÓPOLIS NA CAIXA DE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	60
FIGURA 35 - GEO.....	60
FIGURA 36 -VEGETAÇÃO.....	61
FIGURA 37 – FOTO PRÓPOLIS NA CAIXA DE <i>Tetragonisca angustula</i>	61
FIGURA 38 - FOTO GEOPRÓPOLIS NA CAIXA DE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	62
FIGURA 39 -GEO.....	62
FIGURA 40-VEGETAÇÃO.....	62
FIGURA 41 - PRÓPOLIS NA CAIXA DE <i>Tetragonisca angustula</i>	63
FIGURA 42 - FOTOS GEOPRÓPOLIS NA CAIXA DE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	63
FIGURA 43-GEO.....	63
FIGURA 44-VEGETAÇÃO.....	64
FIGURA 45 -MORRETES-PR PRÓPOLIS <i>Tetragonisca angustula</i>	64
FIGURA 46 – MORRETES-PR PRÓPOLIS <i>Tetragonisca angustula</i>	65
FIGURA 47 – VEGETAÇÃO.....	66
FIGURA 48- PRÓPOLIS TRITURADAS PARA O PROCESSO DE DISSOLUÇÃO E DILUIÇÃO, ASSIM POSTERIORMENTE HIDRODESTILAÇÃO.....	67
FIGURA 49- PESAGEM DA PRÓPOLIS TRITURADA PARA O PROCESSO DE DISSOLUÇÃO E DILUIÇÃO, E POSTERIOR HIDRODESTILAÇÃO.....	67
FIGURA 50- PRÓPOLIS TRITURADA DISSOLVIDA E DILUIDA PARA A HIDRODESTILAÇÃO.....	68
FIGURA 51 – SISTEMA DE HIDRODESTILAÇÃO.....	69
FIGURA 52- SEPARAÇÃO ENTRE O GEO E PRÓPOLIS NO PROCESSO DE HIDRODESTILAÇÃO.....	69
FIGURA 53- HIDROLATO APÓS A EBULIÇÃO NA HIDRODESTILAÇÃO.....	70
FIGURA 54- CENTRIFUGA COM EPPENDORFS PARA SEPARAÇÃO DA ÁGUA E ÓLEO ESSENCIAL.....	70
FIGURA 55- FRAÇÃO VOLÁTIL APÓS SEPARAÇÃO DO HIDROLATO- DENSO E DE COLORAÇÃO TURVA.....	72
FIGURA 56 - PIGMENTAÇÃO DA PRÓPOLIS <i>Tetragonisca angustula</i>	72
FIGURA 57 - PIGMENTAÇÃO DA PRÓPOLIS <i>Tetragonisca angustula</i>	73
FIGURA 58 - PIGMENTAÇÃO DA GEOPRÓPOLIS <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	74
FIGURA 59- PIGMENTAÇÃO AZULADA DA PRÓPOLIS <i>Tetragonisca angustula</i> no MUNICÍPIO DE GUARATUBA PR.....	76
FIGURA 60- ÓLEO VOLÁTIL DE APENAS 1 EXTRAÇÃO, ACONDICIONADO APÓS	

CENTRIFUGAÇÃO.....	77
FIGURA 61 - 1º EXTRAÇÃO COM A MESMA BIOMASSA APÓS 24 h IMERSA EM ÁGUA DESTILADA.....	78
FIGURA 62- CLEVINGER	78
FIGURA 63- EPPENDORF'S COM ÓLEO VOLÁTIL DE GEOPRÓPOLIS CENTIFUGADOS.....	80
FIGURA 64-CROMATOGRAMA DA AMOSTRA TABELA 6– COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023	81
FIGURA 65 – CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADA NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.....	83
FIGURA 66 – CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADA NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.....	84
FIGURA 67 - CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADA NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.....	85
FIGURA 68– CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DO ÓLEO VOLÁTIL DA PRÓPOLIS COLETADAS NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.....	89
FIGURA 69– PERFURAÇÃO DE POÇOS DE 6 mm PARA ENSAIOS ANTIMICROBIANOS.....	89
FIGURA 70 – PLACAS DOS ENSAIOS ANTIMICROBIANOS.....	89
FIGURA 71 - PERÍODO OUTONO/INVERNO HALO DA ZONA DE INIBIÇÃO ANTIBACTERIANO <i>E.coli</i> 25923 - ESPÉCIE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i> PARANAGUÁ PR.....	90
FIGURA 72- PERÍODO VERÃO HALO DA ZONA DE INIBIÇÃO ANTIBACTERIANO <i>E.coli</i> 25923 - ESPÉCIE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i> – GUARATUBA PR E PARANAGUÁ PR.....	90
FIGURA 73 – PERÍODO OUTONO/INVERNO HALO DA ZONA DE INIBIÇÃO DA ZONA DE INIBIÇÃO ANTIBACTERIANO <i>S.aureus</i> 25923 ESPÉCIE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i> – PARANAGUÁ PR.....	91
FIGURA 74 - PERÍODO OUTONO/INVERNO HALO DA ZONA DE INIBIÇÃO ANTIBACTERIANO <i>S.aureus</i> 25923 ESPÉCIE <i>Tetragonisca angustula</i> GUARATUBA PR.....	91
FIGURA 75 – PERÍODO VERÃO HALO DA ZONA DE INIBIÇÃO ANTIBACTERIANO <i>S.aureus</i> 25923 ESPÉCIE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	

GUARATUBA PR E PARANAGUÁ PR.....	92
FIGURA 76- ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA À ANTIBIÓTICOS.....	100
FIGURA 77- ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA À ANTIBIÓTICOS.....	101
FIGURA 78- ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA À ANTIBIÓTICOS.....	102

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1- REVISÃO DOS CONCEITOS DA PESQUISA.....	22
--	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- DESCRIÇÃO DAS COLETAS DAS PRÓPOLIS EM NATURA, PARA EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO PERÍODO OUTONO E INVERNO 2022.....	41
TABELA 2- DESCRIÇÃO DAS COLETAS DAS PRÓPOLIS EM NATURA, PARA EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO PERÍODO VERÃO 2023.....	42
TABELA 3. ORIGEM BACTERIANA E PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS....	52
TABELA 4 -RENDIMENTO NO PERÍODO OUTONO/INVERNO DAS EXTRAÇÕES DO ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i> e <i>Tetragonisca angustula</i>	75
TABELA 5 - RENDIMENTO NO PERÍODO VERÃO DAS EXTRAÇÕES DO ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	75
TABELA 6- RENDIMENTO DO ÓLEO VOLÁTIL , DE REPETIÇÃO DE EXTRAÇÃO.....	77
TABELA 7– CONSTITUINTE QUÍMICOS ENCONTRADOS NO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.....	79
TABELA 8– COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.....	80
TABELA 9– COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.....	82
TABELA 10– COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.....	83
TABELA 11– COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO VOLÁTIL DE PRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>Tetragonisca angustula</i> , COLETADAS NA ESTAÇÃO INVERNO DE 2022.....	85
TABELA 12. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À <i>S. aureus</i> e <i>E.coli</i> COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	93
TABELA 13. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À <i>E.coli</i> COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	94
TABELA 14. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À <i>S. aureus</i> COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	94
TABELA 15. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À <i>S. aureus</i> COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	95
TABELA 16. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À <i>E. coli</i> COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	95
TABELA 17. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À <i>E.coli</i> COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	96
TABELA 18. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À <i>E.coli</i> COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	96

TABELA 19. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À <i>S. aureus</i> COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	97
TABELA 20. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À <i>S. aureus</i> COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	97
TABELA 21. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À <i>S. aureus</i> COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>	98

SUMÁRIO

1. LITORAL PARANAENSE.....	18
2. PRÓPOLIS ASPECTOS GERAIS.....	20
2.1 PERGUNTA DE PESQUISA.....	21
2.1.1 HIPÓTESE.....	21
2.1.2 QUESTÕES DE PESQUISA.....	21
2.1.3 MATRIZ TEÓRICO-METODOLÓGICA.....	22
2.2 OBJETIVOS	23
2.2.1 OBJETIVO GERAL.....	23
2.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
3. ASPECTOS DO CRESCIMENTO ECONÔMICO E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL.....	24
3.1 BIOPROSPECÇÃO E ECODESENVOLVIMENTO.....	25
4. CARACTERÍSTICAS E POTENCIALIDADE DAS ESPÉCIES <i>Mandaçaima</i> <i>quadrifasciata e Tetragonisca angustula</i>.....	28
5. PRÓPOLIS E ÓLEOS ESSENCIAIS.....	31
5.1 POTENCIAL INVADOR DA PRÓPOLIS DAS ABELHAS NATIVAS.....	33
5.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PRÓPOLIS DE ABELHAS NATIVAS.....	35
6. AÇÃO ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS DAS ABELHAS NATIVAS.....	36
7. CAPACIDADE PRODUTIVA DA PRÓPOLIS DAS ABELHAS NATIVAS.....	36
8. ASPECTOS METODOLÓGICOS.....	39
8.1 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DE PESQUISA.....	39
8.2 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE PESQUISA – OU POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	39
9. MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
9.1 COLETA DE PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS.....	44
9.2 ANÁLISE DA POLICROMIA DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS.....	44
9.2.1 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PORÇÃO VOLÁTIL DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS.....	44

9.2.2 ANÁLISE ANTIMICROBIANA PRELIMINAR DA PORÇÃO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS	45
9.2.3 METODOLOGIA DE VERIFICAÇÃO DE SUSPENSÃO DE CÉLULAS.....	47
9.2.4 METODOLOGIA DE VERIFICAÇÃO DE SUSPENSÃO DE CÉLULAS.....	48
9.2.5 PROCEDIMENTO.....	52
10. ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS.....	52
10.1 LINHAGENS BACTERIANAS.....	53
10.2 PREPARO E PADRONIZAÇÃO DE INÓCULOS BACTERIANOS.....	53
10.3 ANTIBIÓTICOS.....	54
10.4 REALIZAÇÃO DE ENSAIOS ANTIBACTERIANOS.....	55
11. ATIVIDADE MODULADORA DA AÇÃO ANTIBIÓTICA <i>IN VITRO</i> POR CONTATO DIRETO.....	55
12. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	56
12.1.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMOSTRAS DE GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS NA ÁREA URBANA NO MUNICÍPIO DE PARANAGUÁ PR.....	58
12.1.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMOSTRAS DE GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS NA ÁREA RURAL E MEIO URBANO NO MUNICÍPIO DE PARANAGUÁ PR.....	60
12.1.4 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMOSTRAS DE GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS NA ÁREA URBANA NO MUNICÍPIO DE GUARATUBA PR	61
12.1.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMOSTRAS DE GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS NA ÁREA RURAL NO MUNICÍPIO DE PARANAGUÁ PR.....	63
12.1.6 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMOSTRAS DE GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS NA ÁREA RURAL NO MUNICÍPIO DE MORRETES PR.....	64
12.1.7 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMOSTRAS DE GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS NA ÁREA RURAL EM OUTRO PONTO DE COLETA NO MUNICÍPIO DE MORRETES PR	65
13. RESULTADO DA EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS VOLÁTEIS DE GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS NO LITORAL DO PARANÁ.....	65
14. RESULTADOS DA POLICROMIA DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS NO MUNICÍPIOS DE GUARATUBA , MORRETES E PARANAGUÁ-PR.....	71
15. RESULTADOS DOS RENDIMENTOS DOS ÓLEOS VOLÁTEIS DA PRÓPOLIS RESULTADOS DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS VOLÁTEIS DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS.....	74
15.1 RESULTADO DA TÉCNICA DE RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>Mandaçaiá quadrifasciata</i>	76
16. RESULTADOS E DISCUSSÕES DA AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS VOLÁTEIS DA PRÓPOLIS NO LITORAL PARANAENSE.....	78

17. RESULTADO DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA À ANTIBIÓTICOS.....	88
18. RESULTADO DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA À ANTIBIÓTICOS.....	100
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	103
REFERÊNCIAS.....	105

1 LITORAL PARANAENSE

O Litoral Brasileiro tem em seu território áreas cobertas pela Floresta Atlântica. Esse bioma é composto por um conjunto de florestas e ecossistemas cujos processos ecológicos se interligam e correspondem a 15% do território brasileiro. Segundo Mascarenhas (2013), o estado do Paraná possui a maior área contígua de Mata Atlântica remanescente do país e é um dos biomas mais ameaçados do mundo, a região abrange o litoral norte do estado e inclui um grande número de áreas protegidas em diferentes categorias, sendo a Área Ecológica de Guaraqueçaba a maior e incluindo também outras áreas protegidas. O autor ainda relata a sobreposição de áreas protegidas está prevista no Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC), que tem por finalidade regular e estabelecer áreas protegidas no Brasil e formar uma rede de unidades comunicantes e interagentes. Por sua vez, o litoral Paranaense igualmente detém uma unidade de conservação de proteção integral localizada nos municípios de Matinhos, Guaratuba, Morretes e Paranaguá, sendo administrada pelo ICMBio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade).

A unidade de conservação de proteção integral (PI) tem como categorias: Estação Ecológica; Reserva Biológica; Reserva Extrativista; Reserva de Fauna; Reserva de Desenvolvimento Sustentável entre outras. Reforça-se que as Unidades de Uso Sustentável visam “compatibilizar a conservação da natureza com o uso sustentável de parcela dos seus recursos naturais” (art. 7º, §2º). Por uso sustentável entende-se a “exploração do ambiente de maneira a garantir a perenidade dos recursos ambientais renováveis e dos processos ecológicos, mantendo a biodiversidade e os demais atributos ecológicos, de forma socialmente justa e economicamente viável” art. 2º, inciso XI (MEDEIROS, 2004).

Segundo Denardin e Alves (2019), o litoral do Paraná se localiza em uma área de 6.058 km², e possui 7 municípios, sendo coberta pelo bioma mata atlântica. Possui um grande valor ecológico, com riqueza de biodiversidade e com a paisagem bem conservados.

Estas paisagens representam os últimos remanescentes contínuos de floresta atlântica costeira do Brasil e ainda se encontram relativamente bem conservados, graças às características geomorfológicas regionais, aos processos históricos de ocupação do litoral e à presença de unidades de conservação.

Para Ab’Sáber (2003), em sua obra “*Potencialidades Paisagísticas Brasileiras*”, o conceito de paisagem é definido como o conjunto de elementos naturais ou artificiais de heranças que tem ações antigas e recentes e constituem um patrimônio coletivo que as sociedades se apropriaram territorialmente, a qual denominamos como uma herança nacional e somos responsáveis pela utilização não predatória desses espaços de origem natural.

Nesse sentido, o conceito sistêmico que traz a preocupação com a natureza, e dessa forma atender essas necessidades onde os recursos não se esgotam no futuro, é o desenvolvimento sustentável. Esse conceito foi usado pela primeira vez em 1987, no relatório Brundtland, um relatório elaborado pela Comissão Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, criada em 1983 pela Assembléia das Nações Unidas.

A prática da meliponicultura se insere neste conceito, pois encontra-se associada aos recursos naturais, onde a biodiversidade e o clima favorecem a conservação e a expansão das espécies. Esta atividade contribui para a manutenção da mata nativa e construção da sustentabilidade dos moradores da região. A economia da região do litoral Paranaense é composta pelo turismo, gastronomia, atividade de pesca, serviços imobiliários, atividades agrícolas e portuárias. Contudo, a taxa de desemprego é alta e com o aumento da população no litoral do Paraná, aumenta também o percentual de trabalhadores ligados ao trabalho informal por falta da oportunidade de trabalho formal (ALVES; FELISBINO; SULZBACH, 2011).

Ressalta-se, como destaca Sampaio (2011 apud Denardin 2021, p.21), que a vulnerabilidade socioeconômica está relacionada às ausências de políticas públicas, enfraquecendo as características de identidade territorial. Desse modo, compromete a construção de propostas de desenvolvimento territorial sustentável, o que leva ao desequilíbrio dos ecossistemas e à fragilidade territorial.

Contudo, sabe-se que as abelhas nativas desempenham um papel essencial na segurança territorial, fazendo parte de 66% das espécies responsáveis pela polinização na agricultura, promovendo a melhora na qualidade dos frutos, evitando as perdas na colheita e aumentando a produção, bem como agregando maior valor nestes produtos (SARAIVA; FONSECA; CASTRO, 2019).

Dessa forma, a polinização nos fornece não somente a segurança alimentar, mas também a segurança hídrica, visto que auxilia na manutenção das florestas, ou seja, sem a cobertura vegetal as nascentes secam. Além disso, o serviço de polinização através das abelhas nativas, mostram-se como uma ferramenta muito importante para o processo de transição agroecológica, pois para a criação e conservação das abelhas é primordial excluir o uso de agrotóxicos nos cultivos, os quais são uma das principais causas de extinção das espécie de abelhas nativas e de outras espécies de polinizadores.

Dentre os produtos das abelhas nativas, o mais notável é a própolis devida as suas propriedades farmacológicas, que pode ter alto potencial para bioprospecção. Entretanto, constatou-se que grande parte dos estudos realizados nessa área direciona-se para a análise de mel e não da própolis das abelhas nativas. Por essa razão o intuito do projeto é mostrar a

importância da própolis fabricada pelas abelhas nativas, divulgar seus usos e o potencial do óleo essencial, pois o que se sabe sobre a própolis é que ela possui propriedades anti-infecciosas, antimicrobianas, antifúngica, antiparasitária, antiviral, anticancerígena e provavelmente imune estimulante, entre outras.

Em síntese, a criação racional das abelhas nativas é considerada uma estratégia de fortalecimento ambiental que proporciona o desenvolvimento territorial sustentável com grande capacidade de transformação social.

2. PRÓPOLIS - ASPECTOS GERAIS

A própolis é produzida a partir da coleta de secreções de árvores, folhas e flores. Trata-se de um material resinoso colhido pelas abelhas melíferas de diferentes plantas. Conhecida por suas propriedades biológicas, a própolis contém 30% de resina, 5% de pólen e 10% de óleo essencial. Esta resina é utilizada pelas abelhas na proteção da colméia contra a proliferação de microrganismos (GHEDIRA; GOETZ; LE JEUNE, 2009).

Um dos desafios envolvendo a própolis das abelhas nativas é a comercialização, pois a legislação existente menciona apenas a própolis de *Apis mellifera*. O regulamento de Identidade e Qualidade de Extrato de Própolis do Ministério da Agricultura e do Abastecimento da Instrução Normativa n.º.3, estabelece como requisitos de qualidade para os extratos de própolis, teor um mínimo de flavonóides de 0,25% (m/m) e de fenóis.

Contudo, estudos anteriores indicaram que a maioria das amostras de própolis das abelhas (*Apidae: meliponini*) apresentaram teores de flavonóides e de fenóis totais acima do mínimo exigido pela legislação brasileira. Isto indica a necessidade de ajuste na legislação atual para o estabelecimento da identidade e qualidade de própolis de abelhas nativas.

Por outro lado, a composição química da própolis é bastante complexa. Estudos anteriores, indicaram a presença de mais de 300 componentes, cuja expressão é dependente da sazonalidade da flora local. Tal fator representa um desafio para a padronização de seu extrato (MARCUCCI, 1995; DE CASTRO, 2001).

Estudos recentes, demonstraram a eficácia biológica da própolis da espécie *Tetragonisca angustula*, frente à bactérias Gram-positivas e Gram negativas (BARREIRAS et al, 2020). Nessa perspectiva, é necessário que mais pesquisas em torno da própolis das abelhas nativas sejam desenvolvidos afim de contribuir para o desenvolvimento local sustentável com fundamento nas espécies do gênero Meliponini.

Nesse contexto, a pesquisa se propõe a investigar a composição química e o potencial biológico do óleo essencial da própolis das abelhas nativas Mandaçaia (*Mandaçaia quadrifasciata*) e Jataí (*Tetragonisca angustula*). Busca-se a construção participativa, para a conservação ambiental alinhado ao fortalecimento econômico das comunidades localizadas no Litoral Paranaense através do comércio da própolis.

2.1 PERGUNTA DE PESQUISA

O presente projeto busca investigar a seguinte questão: Qual a composição química do óleo volátil da própolis, das espécies *Mandaçaia quadrifasciata* e *Tetragonisca angustula*, bem como qual sua eficácia biológica frente cepas bacterianas?

2.1.1 HIPÓTESE

Os meliponicultores locais detém pouco conhecimento acerca das ações benéficas da própolis das espécies nativas na saúde humana, motivo pelo qual poucos possuem o hábito de utilizar a própolis dessas espécies como medicina popular.

2.1.2 QUESTÕES DE PESQUISA

A presente pesquisa busca esclarecer os seguintes elementos:

- A contribuição biológica do óleo essencial da própolis;
- Os constituintes químicos do óleo essencial da própolis;
- Benefícios do uso da própolis como medicina popular;
- Potencial do subproduto para contribuir no desenvolvimento local e da região;

2.1.3 Matriz Teórico-Methodológica

QUADRO 1- REVISÃO DOS CONCEITOS DA PESQUISA

CONCEITO	CONTEXTO	PRINCIPAIS AUTORES
Própolis	1. Metabólitos secundários 2. Composição Química 3. Padronização	GHISALBERTI, E.L. (1979). GHEDIRA;GOETZ <i>et al</i> (2009). MARCUCCI,(1995);DE CASTRO, (2001).
Desenvolvimento Local	1. Construção do território	DENARDIN (2019). AB'SABER (2003).
Ecodesenvolvimento	1. Conceito 2. Recursos Ambientais	SACHS;I (1986).
Abelhas Nativas	1. Interação abelha-planta 2. Domínios	MEIRELLES FILHO, 2017. NOGUEIRA NETO (1953) PALUMBO(2015) VILLAS-BOAS (2012).
Recursos Genéticos	1. Estratégia de Conservação	SILVA; <i>et al</i> (2020).
Bioprospecção	1. Conceito 2. Características	DONATO <i>et al</i> (2020).
Óleos Essenciais	1. Conceito e natureza 2. Aplicação	SILVA; <i>et al</i> (2019).

Fonte: Autora.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 OBJETIVO GERAL

Fortalecer a socioeconomia do Litoral Paranaense através da atividade de Meliponicultura e comercialização dos subprodutos das abelhas nativas, bem como, contribuir para a conservação da biodiversidade. Para tanto, buscou-se investigar, o potencial biológico e químico do óleo volátil da própolis das abelhas nativas.

2.2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a composição química dos óleos voláteis de própolis dos gêneros *Melipona* e *Tetragonisca*: Mandaçaia (*Mandaçaia quadrifasciata*) e a Jataí (*Tetragonisca angustula*) no litoral Paranaense;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do óleo volátil de própolis frente à cepas resistentes de microrganismos patogênicos;
- Avaliar a policromia dos extratos de geoprópolis e própolis, para verificação da seletividade das abelhas nativas na escolha da coleta de resina das plantas;
- Analisar a os aspectos físicos da geoprópolis e própolis coletados nos diferentes ambientes , rural e urbano;
- Avaliar a atividade moduladora de potencialidade dos extratos e óleos essenciais de geoprópolis e própolis adicionados aos antibióticos, canamicina, gentamicina e neomicina contra as cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC25923 e *Escherichia coli* (ATCC25922).

3 ASPECTOS DO CRESCIMENTO ECONÔMICO E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

No atual modelo desenvolvimentista, reconhecer que estamos no tempo geológico Antropoceno, é admitir que esse modelo é deficiente e que nos perdemos no caminho, que nosso planeta está doente assim como seus habitantes. Como atores sociais precisamos nos tornar visíveis pra tentar mitigar ou até mesmo reverter os danos causados a nossa casa (Terra). Trata-se de uma corrida contra o tempo, tempo esse que está em aceleração e caminhando para o esgotamento dos recursos naturais.

Autores como Amartya Sen, Celso Furtado, Sachs e Satrústegui, fazem críticas ao crescimento econômico, gerador de problemas socioambientais. Amartya Sen discorre sobre as dimensões essenciais existentes, que não são enxergadas como deveriam na perspectiva das liberdades substantivas. Celso Furtado, por sua vez, afirma que a ideia de desenvolvimento é um mito, já que desvia a atenção das necessidades básicas na dimensão social e concentra em objetivos abstratos como as exportações e os investimentos, ou seja, o crescimento econômico. Sachs, menciona que “o crescimento econômico é míope”, pois, não enxerga as dimensões sociais. Entre essas dimensões estão às liberdades substantivas. Do mesmo modo Satrústegui descreve a consequência do crescimento econômico como mau-desenvolvimento gerando desigualdades, perda de direitos humanos e crise ambiental. Assim temos um desenvolvimento deficiente como descreve o autor Amartya Sen. Como afirma o referido autor “*o desenvolvimento tem de estar relacionado sobre tudo com a melhora devida que levamos e das liberdades que desfrutamos*” (SEN,1999, p.29).

Isso quer dizer que as privações das liberdades substantivas impedem o acesso às oportunidades. A liberdade é um dos sistemas avaliatórios de fracasso ou eficácia social, as pessoas tendo oportunidades, podem influenciar o mundo nas questões centrais para o desenvolvimento (SEN,1999).

Guimarães reforça que, em meados de 1970, foi o período histórico mundial, quando o movimento ambientalista começa a ganhar notoriedade através da conferência da ONU sobre o ambiente humano. Pode-se dizer que esse assunto em pauta desencadeou mais tarde outros assuntos como Desenvolvimento Sustentável e a Educação Ambiental que trazem a preocupação com o meio ambiente. Estes, propõe-se alternativas de mitigação e conservação da vida, pois é notório o esgotamento dos recursos naturais, oriundos das ações antrópicas (GUIMARÃES, 2013,p.12).

Nessa perspectiva, é de suma importância a busca por estratégias de conservação dos diferentes biomas. Uma questão básica são ações que aliem conservação da biodiversidade e inclusão social. Isto é, propiciar o uso sustentável da dos recursos naturais, através da integração de serviços dos ecossistemas e bioprospecção com restauração. Desenvolver esses aspectos, que relevam à vez de compromissos internacionais e das ações específicas a serem executadas no escopo do desenvolvimento sustentável, necessita a formulação de políticas inquisitórias e parcerias interinstitucionais voltadas à pesquisa interdisciplinar sobre o tema.

3.1 BIOPROSPECÇÃO E ECODESENVOLVIMENTO

O Brasil é o país que detém a maior biodiversidade de flora e fauna e, historicamente as plantas medicinais sempre fizeram parte das práticas de manejo das populações indígenas no Brasil. Sabe-se que antes de Colombo os saberes dos povos indígenas sobre espécies de plantas já auxiliavam no tratamento e na cura de doenças. No entanto, a forma como os indígenas manejavam as plantas para cura de doenças despertou interesses dos colonos nesta farmácia viva e seus efeitos medicinais.

Para os colonos, conhecer a nova terra significava aprender a dominar a natureza a partir do conhecimento dos nativos, incluindo aspectos relacionados aos tipos e usos de plantas curativas (DONATO et. al, 2020,p.26).

“A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira”, é o título da obra do historiador estadunidense Warren Dean. Considerado o pioneiro da história ambiental, o autor narra a destruição da mata atlântica que se intensificou com a chegada dos portugueses na costa brasileira no ano de 1500. O resultado da cobiça,

ignorância e a descoberta da árvore vermelha Ibirapitanga (pau-brasil), a qual os indígenas utilizavam na coloração de suas roupas, principiaram a destruição das florestas e seus recursos, que somente no primeiro século, provocaram a devastação de seis mil quilômetros quadrados da Mata Atlântica.

[...] qualquer um que viaja pela fronteira brasileira avista uma cena de puro horror: assalto genocida sobre povos tribais, devastação pelo fogo e pela motosserra de florestas climáticas insubstituíveis e de possessão e massacre de agricultores pioneiros. Tudo isso numa escala inimaginável, sendo ao mesmo tempo algo fútil e bárbaro, pois produz apenas um lucro evanescente, além de terras nuas e degradadas [wasteland] como legado (DEAN, 1984, p. 1193).

Segundo Dean (1996), os europeus se apropriaram do conhecimento que os povos indígenas tinham sobre as florestas. Neste sentido, a extração e a comercialização do pau-brasil só foram possíveis pelo compartilhamento desses saberes.

Porto Gonçalves traz o conceito de etno-biopirataria (tráfico dos saberes étnicos sobre plantas e animais). À vista disso, não só o conhecimento sobre o produto foi contrabandeado, como também o próprio produto. O autor ainda argumenta que os povos inventaram sua relação com a natureza a partir do organismo e não com o gene.

O gene só é observável através de instrumentos laboratoriais e não a olho nu, como até aqui estávamos acostumados todos. Não é qualquer um que vê o gene ou tem condições materiais para vê-lo. Assim, há um deslocamento do *locus* de produção do conhecimento do “espaço banal” da vida onde todos podem ver para os laboratórios, novos centros industriais capturados pelo capital, suas novas fábricas. (PORTO GONÇALVES, 2012, p.23).

No Brasil, os saberes sobre plantas foram replicados e atualmente fracionados por diferentes populações: indígenas, pantaneiros, raizeiros, quilombolas, pescadores, bem como agricultores familiares. Essa relação com a natureza e manuseio das plantas como recurso é estudada pela etnobotânica. O termo foi criado pela primeira vez em 1895 pelo botânico e americano John William Harshberger (DONATO et al., 2020). No mesmo âmbito, a etnofarmacologia estuda as propriedades medicinais de plantas naturais a partir desse manuseio e saber popular (DONATO et al., 2020).

Geralmente as populações que mais fazem o uso de plantas medicinais estão

localizadas em cidades do interior onde não se perdeu a tradição cultural e conhecimentos transmitidos entre as gerações.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) em 1978 reconheceu o uso de plantas medicinais com finalidades curativas, profilática e paleativa. O SUS, igualmente, valoriza a prática dos tratamentos fitoterápicos em concordância com a OMS. Em 2006 o Ministério da Saúde criou as políticas de práticas integrativas, incentivando o acesso dos usuários do SUS a essas plantas medicinais priorizando a biodiversidade brasileira.

A palavra bioprospecção do grego Bio é um termo grego que significa vida. Já a palavra de junção prospecção, tem origem no latim, pode ser entendido como um conjunto de técnicas de localização, pesquisa e desenvolvimento. Este termo foi definido em 1993 entendido como “a exploração da biodiversidade para a descoberta de recursos genéticos e substâncias bioquímicas comercialmente úteis” Pinto et al (appud LAIRD, 2002). Segundo Belli e colaboradores (2009), a biodiversidade possui valor econômico, a exemplo a bioprospecção, que investiga esse recurso e potencial econômico para se desenvolver produtos oriundos da natureza.

A bioprospecção é entendida como investigação e exploração da biodiversidade para descoberta de recursos genéticos. O papel da bioprospecção é de extrema importância, pois possibilita a prospecção de novos fármacos de origem de produtos naturais (DONATO et. al, 2020, p. 202-212).

Nessa perspectiva teórica, molda-se as características inerentes do ecodesenvolvimento. Sachs considera valorizar os recursos específicos naturais, cultural, de paisagens e saberes de cada microrregião, para que seja uma construção dos atores locais, constituindo assim o ecodesenvolvimento nos diferentes territórios. Para Sachs (1986), o ecodesenvolvimento é uma dimensão do desenvolvimento cujo objetivo são éticos e sociais que leva em consideração as condicionalidades ambientais ecológicas, e que pra existir tem que haver viabilidade econômica (SACHS, 1986, p.25).

Para o nosso estudo, podemos inferir que a interação das abelhas nativas com as plantas, contribui para a preservação dos serviços ecossistêmicos e associam-se de forma benéfica ao ecodesenvolvimento, visto que possuem várias atribuições relacionadas ao meio ambiente.

Segundo Sachs (1986), a biodiversidade nos trópicos possui vantagem comparativa natural para o ecodesenvolvimento devido a sua megadiversidade. A

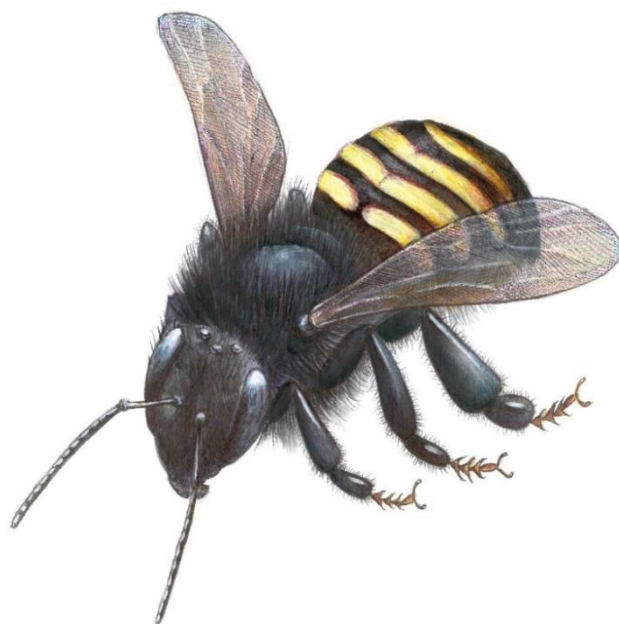
vantagem deve ser potencializada de duas maneiras: pesquisa de identificação do potencial da biodiversidade e organização social includente para juntos superar a desigualdade sociais do nosso país (SACHS, 1986, p.52).

4 CARACTERÍSTICAS E POTENCIALIDADES DAS ESPÉCIES MANDAÇAIA E JATAÍ.

A escolha das espécies é fundamental, visto que, cada uma possui especificidades diferentes, tanto para a produção de mel como para produção da própolis. Algumas espécies produzem mais mel outras mais própolis. Neste sentido, ressalta-se que as espécies escolhidas Mandaçaia (*Mandaçaia quadrifasciata*) e Jataí (*Tetragonisca angustula*) produzem a quantidade de própolis satisfatória para a análise e futura comercialização.

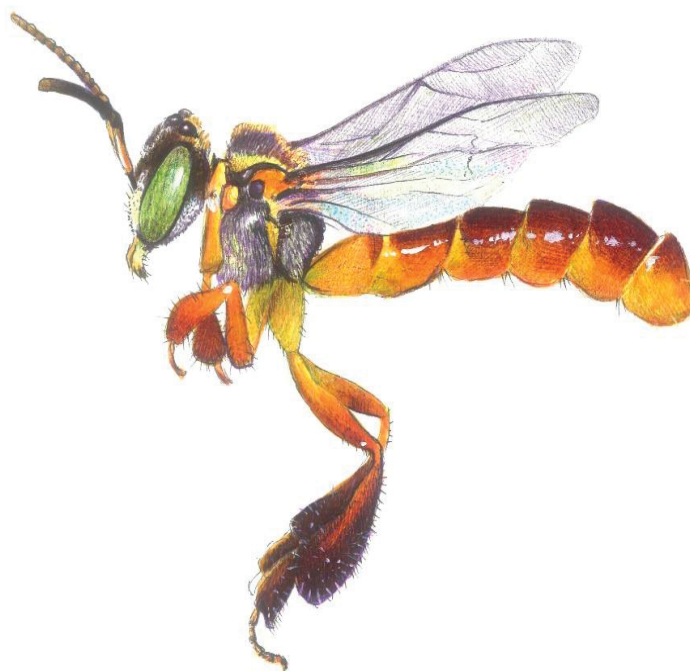
A espécie *Mandaçaia quadrifasciata* é uma abelha de cor negra, tendo em seu abdômen quatro listras amarelas brilhantes transversais nos tergitos, placa dorsal dos segmentos do corpo dos artrópodes. A região entre as antenas, geralmente, possui pêlos negros. É uma abelha robusta que mede entre 8 e 12 mm. Ocorre nos estados do ES, MG, RJ, SP, PR, RS e SC (VILLAS BÔAS, 2012, p.30). As espécies do gênero *Melípona* usam a argila como material de construção para estruturas da parte interna de suas colônias, que se torna um material espesso, diferentemente da tribo *Trigonini* que fabricam misturas livres de argila. Segundo Nogueira Neto, a tribo *Meliponini* pode ser identificada pelo uso de argila para a construção do pito de entrada em sua Colônia (NOGUEIRA NETO, 1997, p. 36).

Para a identificação das espécies obtivemos a contribuição da artista plástica Dinamarquesa Birgitte Tummler através dos desenhos em detalhes das espécies (Figura 1 e 2).

FIGURA 1 – ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*

Fonte: Birgitte Tummler, 2022 (Escala 10:1)

A espécie *Tetragonisca angustula* (Figura 2), do gênero Trigonini, possui cor amarelo-ouro e tem corbículas pretas, mede entre 4 mm e 5 mm. Ocorre nos estados do PR, RS, SC, ES, MG, RJ, SP, GO, MS e MT (VILLAS BÔAS, 2012, p.30). Essa espécie fabrica a cera pura, branca, para construção do pito de entrada da colônia. Esse material pode ser encontrado em pequenos depósitos no ninho de alguns Meliponíneos. O armazenamento desse material, praticamente sem mistura, pode ser observado nas colônias da abelha JATAÍ (*Tetragonisca angustula*), (NOGUEIRA NETO, 1997, p. 36).

FIGURA 2 – ABELHA *Tetragonisca angustula*

Fonte: Birgitte Tummler, 2022 (Escala 10:1)

As espécies em questão, não possuem ferrão, são abelhas sociais. Essa característica permite que sejam criadas de forma racional, não oferecendo riscos aos humanos. A principal potencialidade dessas espécies está em polinizar e manter a sustentabilidade da biodiversidade nas florestas. Estudos das interações entre as plantas e esses polinizadores evidenciam que os fatores temporais bem como disponibilidade de plantas e da atividade das abelhas, permitem a funcionalidade do sistema de polinização. Isso beneficia e mantém o equilíbrio ecológico, independente da composição e arranjo entre elas (DEPRÀ;GAGLIANONE, 2018 p.8-9).

As abelhas nativas, além de promoverem a manutenção da biodiversidade, ainda fabricam produtos medicinais como geléia real, cera, mel e a própolis. A espécie *Mandaçaia quadrifasciata* se caracteriza pela fabricação do geoprópolis, definida como estrutura de argila e resina vegetais (NOGUEIRA NETO,1997, p. 36). Por outro lado, a espécie *Tetragonisca angustula* fabrica a própolis mais pura que contém mistura de cera, polên e resina, sem a mistura de argila. As duas espécies usam a própolis para fins defensivos, tanto para calafetar as fendas da colméia, como para uma defesa direta da colônia contra patógenos e invasores como insetos.

Entretanto, constata-se que as maiorias dos estudos são voltadas para a análise de mel e não da própolis das abelhas nativas. Por isso a importância de estudos que evidenciem o potencial da própolis fabricadas pelas abelhas nativas, pois o que se sabe sobre a própolis é que ela possui propriedades antimicrobianas agindo como um antibiótico natural e provavelmente imuno estimulante, além de anticancerígeno, entre outras (GHISALBERTI, 1979).

Diante deste quadro, é essencial a gestão dos recursos naturais e conhecimento das espécies nativas, bem como o estudo do potencial biológico. Por fim destacamos, que a pesquisa dos extratos e dos óleos essenciais se mostram como alternativa para a criação de protocolos de uso sustentável da biodiversidade (SILVA et al, 2022).

5 GEOPRÓPOLIS , PRÓPOLIS E ÓLEOS VOLÁTEIS

A própolis é feita de uma substância resinosa encontrada nas árvores. É dela que as abelhas recolhem o material para a produção da própolis que contém cera, pólen e óleo volátil. O geoprópolis é a substancia resinosa misturada com geo(Terra), característica de comportamento da espécie *Mandaçaia* que utiliza essa mistura para a defesa e controle térmico da colônia. Entretanto a espécie *Jataí* não faz essa mistura com geo , mas sim a mistura com muita cera e pólen . Pode-se observar a resina das árvores nas corbículas das abelha *Mandaçaia quadrifasciata* e *Tetragonisca angustula* (Figura 3 e 4).

FIGURA 3- CHEGADA NA COLÔNIA DA ESPÉCIE *Mandaçaia quadrifasciata* COM RESINA DAS PLANTAS NAS CORBÍCULAS



Fonte: a autora, 2022.

FIGURA 4- CHEGADA NA COLÔNIA DA ESPÉCIE *Tetragonisca angustula* COM RESINA DAS PLANTAS NAS CORBÍCULAS



Fonte: YAMAMOTO, 2023.

Segundo Ghisalberti (1979), a própolis é utilizada há pelo menos 300 anos a.C. e tem sido empregada na medicina popular em todo o mundo. Há relatos de seu uso no Egito, Grécia e Roma para tratar doenças de pele, bem como para aumentar a imunidade. Além disso, os antigos egípcios a utilizavam para embalsamar seus mortos (GHISALBERTI, 1979, p.59).

Etimologicamente, a palavra própolis, de origem grega, significa: pro = em defesa, e polis = cidade. As abelhas utilizam essa mistura resinosa para vedar frestas, recobrir superfícies irregulares e embalsamar eventuais invasores que morrem no interior da colmeia. Por apresentar propriedades medicinais, a própolis também protege a colônia de doenças (GHISALBERTI, 1979, p.61).

Os óleos essenciais, óleos voláteis ou etéreos, se originam do metabolismo secundário de plantas aromáticas. Os componentes dos óleos essenciais pertencem a

duas classes quimicamente distintas: terpenóides e fenilpropanóides.

Sabe-se que no óleo essencial de própolis já foram encontrados cerca de 37 constituintes químicos de relevância, entre eles: antioxidantes e ácido ferúlico, responsáveis por atividade antibacteriana em microrganismo Gram-positivos e Gram-negativos.

Estudos com óleo essencial da própolis em regiões tropicais destacam o potencial farmacológico, evidenciando seus constituintes químicos, tais como: sesquiterpenos, β -cariofileno, o óxido de cariofileno e o viridriflorol (SOUZA et al, 2006, p.1).

Souza e colaboradores (2006), mostraram a importância da investigação química dos constituintes químicos fixos e voláteis do óleo essencial da própolis. Há uma relação da flora local produtora, o que indica sua origem, correlacionando com a atividade farmacológica das abelhas e do própolis. Nesse sentido, Felizardo e colaboradores (2019), corroboram com a reflexão acima ao afirmar que óleos essenciais tem relação às condições e contextos ambientais. Segundo Felizardo

Os óleos essenciais nas plantas estão relacionados com funções ecológicas de defesa e atração de polinizadores, entre outras, e sofrem variações quantitativas e qualitativas em resposta às condições ambientais (FELIZARDO et al., 2019, p.6).

5.1 POTENCIAL INOVADOR DA PRÓPOLIS DAS ABELHAS NATIVAS

O termo abelha sem ferrão é denominado por possuírem ferrão atrofiado, onde torna as abelhas incapazes de ferocar. Essas características englobam todas as espécies descritas no Brasil, também conhecida como abelhas indígenas, pois sua domesticação e classificação partiram das culturas indígenas. (BUENO, 2010).

As abelhas nativas, pertencentes a subfamília dos meliponíneos, e caracterizam-se pelo fato de seu ferrão ser atrofiado e, por isso recebem também a denominação de abelhas sem ferrão. Essas abelhas não se diferenciam das demais abelhas apenas por esta questão, mas também pela característica de seus ninhos e desenvolvimento dentro da colmeia, estruturas internas dentre outros fatores. As abelhas sem ferrão são representadas por mais ou menos 40 gêneros onde possa existir cerca de 300 espécies de abelhas sem ferrão já catalogadas. O gênero da Melipona, onde se destaca as abelhas de grande porte

a colônia possui cerca de 500 a 4.000 mil indivíduos. Já o gênero *Trigona*, onde se destaca as abelhas de pequeno porte, possui colônia com cerca de 300 a 80.000 mil indivíduos (FREITAS, 2003). As abelhas nativas constroem seus ninhos em locais diferenciados, como ocos em troncos de árvore, fendas em rochas e até mesmo em buracos subterrâneos. O grupo dos meliponíneos faz a coleta de diversos materiais para construir suas estruturas, como ninho, potes de mel e a construção da entrada da colônia. Esse material coletado pelas abelhas pode ser transformado em cera com a junção de resinas ou seiva das árvores, denominado de cerume. O gênero das *Melipona* utiliza como característica o barro misturado com resina das árvores para a construção de sua entrada, denominado de geoprópolis (NOGUEIRA-NETO, 1997). Nas abelhas sem ferrão, as fêmeas são geradas a partir de óvulos fecundados, já os machos são resultados de óvulos não fecundados, denominado pela genética de partenogênese arrenótoca. As abelhas operárias são consideradas inférteis, porém, possuem ovários reduzidos. No grupo dos meliponíneos, é comum as operárias botarem ovos tróficos, que servem de alimento para a rainha. A rainha alimenta-se do ovo das operárias no momento em de sua postura na célula ali construída (CASTRO, 2012).

Ao pensarmos em tecnologias ambientais, a vegetação da floresta Atlântica Paranaense conta com recurso promissor para um sistema de inovação regional. Trata-se de uma oportunidade de preservação do meio ambiente conciliado ao desenvolvimento sustentável (PRATES, 2013, p.5). Pode-se pensar em produtos da biodiversidade que agreguem valor e possam tornar fonte de trabalho e renda para as comunidades mais carentes do nosso litoral.

Um estudo realizado por Silva et al. (2015), mostrou a importância dos saberes populares no município de Matinhos-PR. O estudo revelou oitenta espécies de plantas usadas como medicina natural pela população local. Destacou-se que o conhecimento empírico da população a cerca da composição da biodiversidade vegetal do litoral Paranaense está relacionado com ação antiinflamatória, antisséptica e antiespasmódica. Podendo ainda, em alguns casos, serem igualmente usadas como anestésico local (SILVA et al, 2015).

Nesse aspecto a própolis se apresenta como recurso inovador. Recentes estudos dos componentes químicos e ação biológica da própolis das abelhas nativas tem despertado o interesse de pesquisadores e cientistas. Conhecer as potencialidades medicinais da própolis contribui significativamente para o conhecimento e aplicação tecnológica na fabricação de novos medicamentos de origem natural.

A própolis de origem regional, evidenciada pela investigação da bioprospecção como potencial para farmacologia natural, se mostra como produto de patrimônio genético da biodiversidade territorial. Assim sendo, pode se tornar um produto promissor para a inovação, podendo contribuir para criação de um Sistema Regional de Inovação (SRIs).

De acordo com Labiak; Agostinho (2020), para um sistema regional eficaz é preciso apresentar estruturas essenciais.

É importante destacar que os sistemas regionais não deverão compartilhar conhecimento somente de forma endógena, pois essa prática pode, com o tempo, se tornar um elemento de diminuição da competitividade territorial e empobrecimento dos níveis de conhecimento e inovação, ou seja, os fluxos de conhecimento com outros ecossistemas trazem o “frescor” dos novos conhecimentos, possibilitando aprendizado coletivo (LABIAK; AGOSTINHO, 2020, p.17)

As dimensões que contemplam uma possível estrutura para que a própolis das abelhas nativas se torne um produto genético territorial inovador, parte inicialmente da investigação pela bioprospecção, atrelados aos saberes empíricos da população local.

Segundo Santos e Caliari (2012), os melhores índices de desenvolvimento regional estão relacionados à melhores estruturas de tecnologia e inovação. O estudo também aponta os grandes polos de desenvolvimento como detentores de melhores estruturas e concentração de renda. Portanto, podendo influenciar positivamente nas microrregiões da mesma. Usou-se como modelo o estado de São Paulo, que possui capacidades inovativas de desenvolvimento de suas microrregiões (SANTOS; CALIARI, 2012).

5.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PRÓPOLIS DE ABELHAS NATIVAS

A estrutura química da própolis é bastante complexa, porém estudos da temática vem se intensificando na busca pela descoberta de seus mecanismos de ação. Alguns estudos mostraram a presença de flavonóides, ácidos aromáticos e ésteres, aldeídos e cetonas, terpenóides e fenilpropanóides, esteróides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos, entre outros componentes químicos.

O estudo de Oliveira et al. (2010), descreveu a composição química da própolis. Nesse estudo relatou-se que não só tem vantagens para a abelha, mas mostra-se com alto potencial farmacológico, visto que revelou 26 componentes de 67,5% do total do óleo

essencial. Destacou-se o β -cariofileno, acetofenona e linalol. O β -cariofileno foi o principal componente, igualmente encontrados em outros estudos como majoritário. O estudo mostrou-se semelhante a outros estudos na composição dos constituintes, exceto para o constituinte linalol, metil-hidrocinnamato, etil-hidrocinnamato, α -ilangeno, γ -elemeno e valenceno. Os autores descreveram esse estudo como o pioneiro em evidenciar a presença desses constituintes. A atividade antibacteriana do óleo essencial de própolis também foi investigada frente cepas gram negativas de *E. coli* e *S. pyogenes*. A atividade antibacteriana segundo Sacchetti pode ser atribuída à presença de terpenóides (48,4%). Mas o seu mecanismo de ação não é totalmente compreendido (OLIVEIRA et al., 2010).

6. AÇÃO ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS DAS ABELHAS NATIVAS

Ensaio biológico tem apresentado a eficácia da ação antimicrobiana do extrato da própolis das abelhas nativas. Em estudo com a espécie Jataí (*Tetragonisca angustula*) frente bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, verificou-se o potencial como antibiótico natural do extrato da própolis das abelhas Jataí. Trata-se de uma alternativa natural para combater a resistência microbiana das infecções causadas em hospitais. O estudo apontou resultados eficientes frente às cepas testadas. Destacou ainda que a composição da própolis é dependente da sazonalidade, do local em que as abelhas estão e materiais que elas coletam para a produção da própolis (BARREIRAS et al, 2019, p.6).

7. CAPACIDADE PRODUTIVA DA PRÓPOLIS DAS ABELHAS NATIVAS

Um estudo realizado no laboratório da Embrapa, avaliou a capacidade produtiva de 6 espécies de abelhas sem ferrão: *Frieseomelita cf. longipes*, *Frieseomelitta flavicornis*, *Scaptotrigona postica*, *Melipona melanoventer*, *Melipona fasciculata* e *Melipona flavolineata*. Os resultados revelam que as três primeiras espécies produzem própolis puro, enquanto as demais produzem uma mistura de própolis com barro. Ao analisar a capacidade produtiva das espécies escolhidas, destaca-se que é a espécie *Frieseomelitta cf. longipes* com maior potencial para a produção de própolis de resinas puras.

Um breve estudo referente a própolis das abelhas nativas, publicado no XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA (2014), enfatizou a falta de estudos

avançados em torno do assunto e que, portanto, sem estudos avançados não é possível agregar valor econômico a esse produto. Ademais, relata que para além dessa lacuna, a composição das própolis das abelhas sem ferrão se diferencia entre si, pois cada espécie escolhe material diferente para o compor (CORDEIRO; MENEZES, 2014, p.1-3).

As pesquisas em torno da própolis das abelhas nativas vem ganhando notoriedade. Apesar da sua complexidade, caminhos estão se tornando possíveis para uma futura comercialização de maneira artesanal a agregar valor territorial. **O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa)** está reconhecendo os subprodutos das abelhas nativas como patrimônio genético local. Considera que há um potencial de crescimento no setor e isto permite aos meliponicultores que comercializem seus produtos de forma artesanal.

O presente regulamento da portaria [portaria nº 289/2021](#) entrou em vigor para que estabelecimentos fabricantes de produtos de abelhas e derivados solicitem o selo arte. Os requisitos necessários descritos na portaria, podem ser enquadrados em artesanais os produtos de abelhas *apis mellifera* e de abelhas nativas sem ferrão, oriundos da meliponicultura e que precisam ser produzidos e manejados exclusivamente nas áreas geográficas de ocorrência natural da espécie. O processo produtivo precisa respeitar as particularidades de cada espécie de abelha, de forma a manter as características originais do produto.

Para que o subproduto seja considerado artesanal e obter o selo arte, precisa atender a cinco requisitos.

- Produtos oriundos da meliponicultura devem ser produzidos e manejados exclusivamente nas áreas geográficas de ocorrência natural da espécie de abelhas nativas.
- As matérias-primas de origem animal devem ser beneficiadas na propriedade onde a unidade de processamento estiver localizada ou ter origem determinada e os procedimentos de fabricação serem exclusivamente manuais.
- O processamento dos ingredientes precisa ser realizado, prioritariamente, a partir de receita tradicional.
- O uso de ingredientes industrializados precisa ser restrito ao mínimo necessário, sendo vedada a utilização de corantes, aromatizantes e outros aditivos considerados cosméticos.
- O produto final deve ser individualizado, genuíno e manter a originalidade.

Para os Meliponicultores a o Selo_Arte regulamentado pelo [Decreto nº 9.918/2019](#), é a oportunidade de expandir a atividade de meliponicultura e promover a conservação da biodiversidade local, bem como a comercialização a agregação de valor aos seus produtos.

Segundo o MAPA (2021), os benefícios para os consumidores, é uma garantia de qualidade, com a segurança de que a produção é artesanal e respeito às Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação.

Os selos de identificação Artesanal são certificados que asseguram que os produtos alimentícios de origem animal foram elaborados de forma artesanal, com receita e processo que apresentem características tradicionais, regionais, culturais, vinculação ou valorização territorial. Por intermédio da certificação, assegura-se que os produtos possuem propriedades organolépticas únicas, diferenciadas, sejam produzidos de maneira artesanal própria de determinada região, tradição ou cultura e que adotam procedimentos de Boas Práticas Agropecuárias e de Boas Práticas de Fabricação (MAPA, 2021, p.1).

8. ASPECTOS METODOLÓGICOS

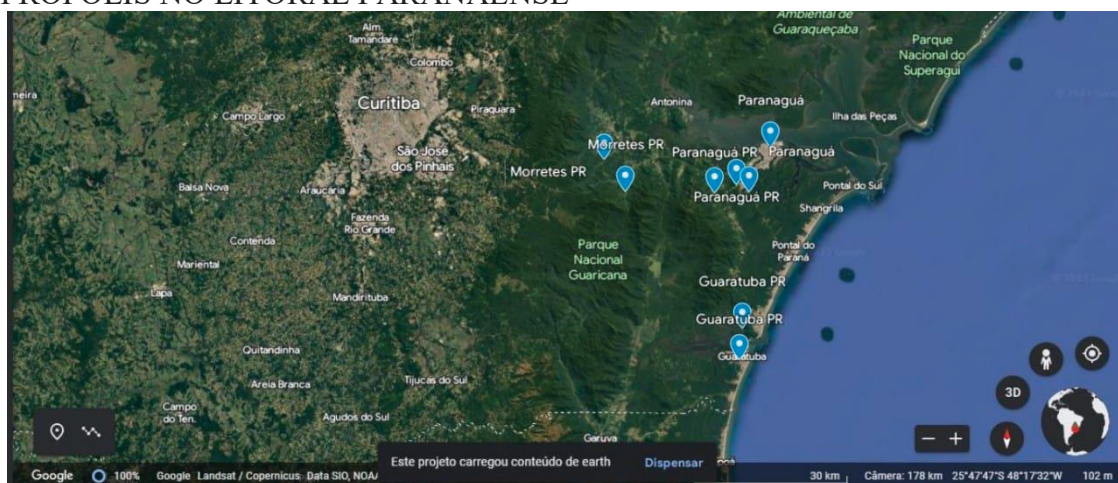
8.1 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DE PESQUISA

A pesquisa é de natureza aplicada, exploratória-experimental de abordagem quantitativa, envolvendo oito Meliponicultores dos municípios de Guaratuba, Morretes e Paranaguá.

8.2 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE PESQUISA, POPULAÇÃO E AMOSTRA

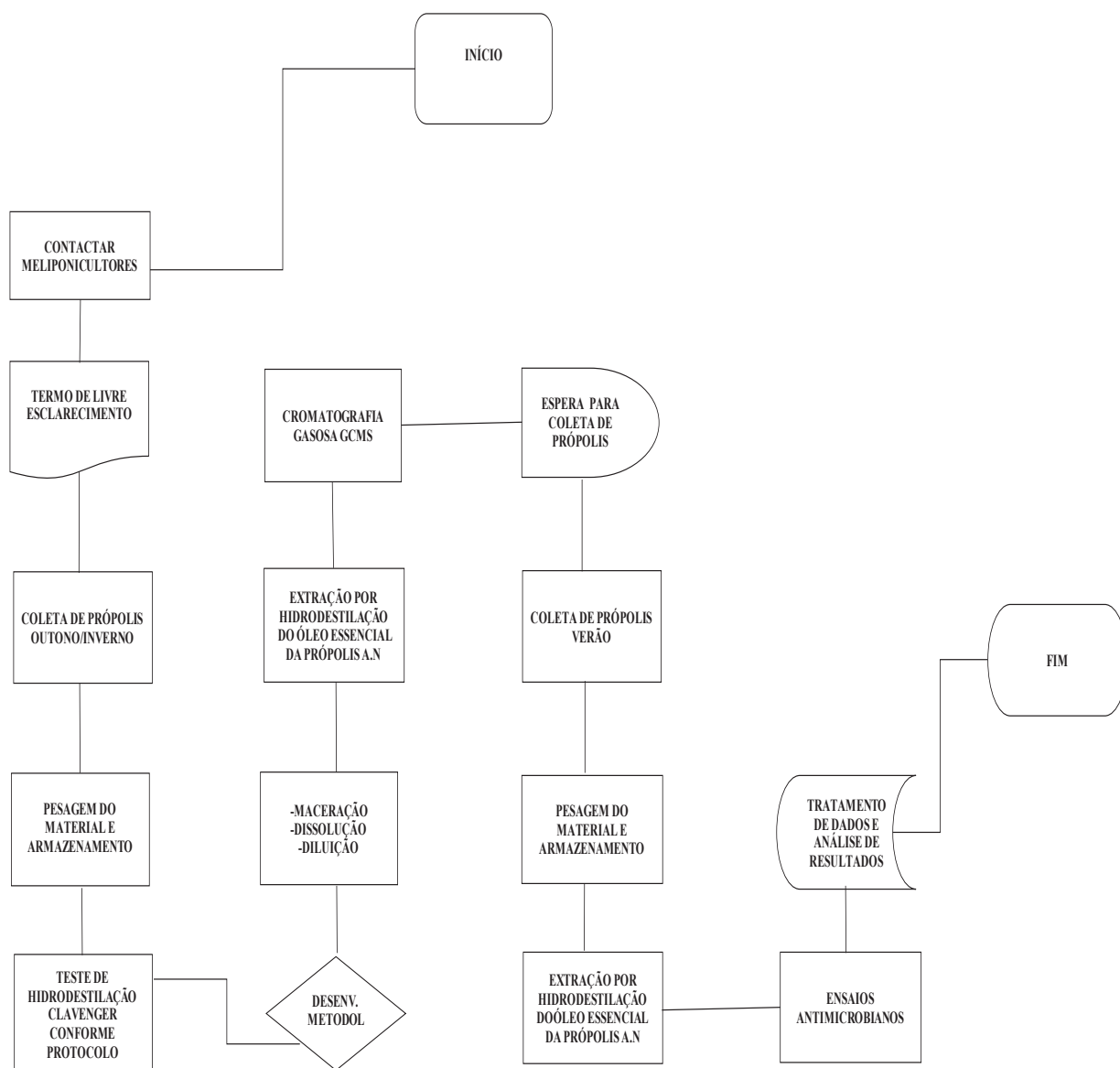
A amostragem, e colaboração dos participantes, foi realizada através de contato de estudos anteriores da autora. O estudo realizou-se nos municípios de Guaratuba, Morretes, e Paranaguá onde foram coletadas amostras das própolis das abelhas Mandaçaia (*Mandaçaia quadrifasciata*) e Jataí (*Tetragonisca angustula*) objetivou-se realizar a caracterização química e avaliação biológica de cada espécie fazendo um comparativo por região, a localização e processo da pesquisa pode ser observados nas **FIGURAS 5 e 6**.

FIGURA 5- PONTOS DE COLETAS DAS AMOSTRAS DE GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS NO LITORAL PARANAENSE



Fonte: Adaptado de Google Earth (2023).

FIGURA 6 - FLUXOGRAMA DE PROCESSO DA PESQUISA



Fonte: a autora, 2023.

9.0 MATERIAIS E MÉTODOS

9.1 COLETA DE PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS

Os materiais foram disponibilizado por meliponicultores da região de estudo. A coleta realizou-se em três períodos, no outono/inverno e verão, conforme (TABELA 1 e 2).

TABELA 1- DESCRIÇÃO DAS COLETAS DAS PRÓPOLIS EM NATURA, PARA EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO PERÍODO OUTONO E INVERNO 2022.

MUNICÍPIO	DATA	ESTAÇÃO DO ANO	MATERIAL	ESPÉCIE DE ABELHA
Guaratuba	24.03.22	Outono/inverno	Própolis	<i>Tetragonisca angustula</i>
Paranaguá	13.04.22	Outono/inverno	Própolis	<i>Tetragonisca angustula</i>
Guaratuba	25.07.22	Outono/inverno	Geoprópolis Própolis	<i>Mandaçaia quadrifasciata,</i> <i>Tetragoniscaangustula</i>
Morretes	17.08.22	Outono/inverno	Geoprópolis Própolis	<i>Mandaçaia quadrifasciata,</i> <i>Tetragoniscaangustula</i>
Morretes	17.08.22	Outono/inverno	Própolis	<i>Tetragonisca angustula</i>
Paranaguá	17.09.22	Outono/inverno	Geoprópolis Própolis	<i>Mandaçaia quadrifasciata,</i> <i>Tetragoniscaangustula</i>
Paranaguá	19.09.22	Outono/inverno	Geoprópolis Própolis	<i>Mandaçaia quadrifasciata,</i> <i>Tetragoniscaangustula</i>
Paranaguá	19.09.22	Outono/inverno	Geoprópolis Própolis	<i>Mandaçaia quadrifasciata,</i> <i>Tetragoniscaangustula</i>

Fonte: a autora, 2023.

TABELA 2- DESCRIÇÃO DAS COLETAS DAS PRÓPOLIS EM NATURA, PARA EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO PERÍODO VERÃO 2023.

MUNICÍPIO	DATA	ESTAÇÃO DO ANO	MATERIAL	ESPÉCIE DE ABELHA
Paranaguá	10.04.23	Verão	Geoprópolis Própolis	<i>Mandaçaia quadrifasciata</i> , <i>Tetragoniscaangustula</i>
Paranaguá	10.04.23	Verão	Geoprópolis Própolis	<i>Mandaçaia quadrifasciata</i> , <i>Tetragoniscaangustula</i>
Morretes	12.04.23	Verão	Própolis	<i>Mandaçaia quadrifasciata</i> , <i>Tetragoniscaangustula</i>
Morretes	12.04.23	Verão	Própolis	<i>Tetragonisca angustula</i>
Paranaguá	15.04.23	Verão	Geoprópolis Própolis	<i>Mandaçaia quadrifasciata</i> , <i>Tetragoniscaangustula</i>
Guaratuba	27.04.23	Verão	Geoprópolis Própolis	<i>Mandaçaia quadrifasciata</i> , <i>Tetragoniscaangustula</i>

Fonte: a autora, 2022.

Coleta da Própolis das Abelhas *Mandaçaia quadrifasciata* e *Tetragonisca angustula* e armazenagem, (FIGURA 7 a 9).

FIGURA 7- PRÓPOLIS DA ESPÉCIE *MANDAÇAIA QUADRIFASCIATA* NA CAIXA RACIONAL



Fonte: a autora, 2022.

9.2 ANÁLISE DA POLICROMIA DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS

Adotou-se o método de dissolução para identificação das cores das diferentes amostras de própolis e geoprópolis . As amostras *in natura* foram pesadas e submetidas a dissolução em álcool de cereais 90% do qual se obteve o extrato, após 4 horas, foi possível identificar a tonalidade dos extratos de própolis.

9.2.1 DESENVOLVIMENTO DE UM PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO VOLÁTIL DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS

Desenvolveu-se uma metodologia para extração de óleos voláteis da própolis e geoprópolis , bem como técnicas para obter maior quantidade da fração volátil.

A metodologia desenvolvida consistiu em triturar a própolis, afim de aumentar a superfície de contato. Após esse processo foi preciso separar as amostras em porções de aproximadamente 100g e realizar uma dissolução usando 50 ml de água destilada deixando repousar por 20 minutos. Logo após realizou-se uma diluição em 350 ml de água destilada, para só então o material fresco de cada coleta ser submetido à extração da fração volátil por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. A extração foi realizada por um período 4h, variando de acordo com as espécies em questão. Ao final, o material volátil foi coletado com uma pipeta e armazenado em um frasco tipo eppendorf no freezer.

9.2.2 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PORÇÃO VOLÁTIL DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS

As amostras de óleos voláteis da própolis e geoprópolis das abelhas nativas foram encaminhadas ao Departamento de Química do Setor Politécnico da Universidade Federal do Paraná- Curitiba-PR. As amostras da porção volátil foram submetidas a análise química por cromatografia gasosa associado a espectrometria de massas. As amostras foram diluídas conforme protocolo para análise cromatográfica em aparelho da Marca Shimadzu GCMS-TQ8040 e Coluna SH-Rtx-5ms (30m, 0,25mm, 025µm, 60^a 300°C, 3°C por minuto), split 90 acoplado e espectrômetro de massas para para determinação da composição química. Para detectar a massa fez-se em modo de ionização de elétrons (70

eV) a uma taxa de 3,15 min⁻¹ de varredura e faixa de massa de 40 a 450 u. A linha de transferência foi mantida a 260 ° C, a fonte de íons a 230 ° C e o analisador (quadrupolo) a 150 ° C. As amostras diluídas foram injetadas em um cromatógrafo Agilent 7890A equipado com detector de ionização de chama (FID), operado a 280 ° C para quantificação. A mesma coluna e as condições analíticas descritas acima foram empregadas, exceto para o gás transportador utilizado, que era hidrogênio a uma vazão de 1,5 mL min⁻¹. O percentual da composição ocorreu pela integração eletrônica do sinal FID dividindo a área de cada componente pela área total (área%). Os constituintes foram identificados comparando seus espectros de massas com os da biblioteca de Adams (2017) igualmente com seus índices de retenção linear, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de hidrocarbonetos (C7 - C26) esses comparados com dados da literatura. Os picos foram analisados pelo Software “GCMS Postrun Analysis”.

9.2.3 ANÁLISE ANTIMICROBIANA PRELIMINAR DA PORÇÃO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS PRÓPOLIS E PRÓPOLIS

Para os ensaios fez-se a preferência das cepas bacterianas gram negativa *Escherichia coli* NCM 3722 e gram positiva *Staphylococcus aureus* 25923. Colônias isoladas foram cultivadas em meio LB e incubadas num agitador rotativo a 37 ° C, durante 24 horas. Após este período, fez-se uma diluição de 1:5 para obter uma suspensão contendo cerca de 2:10⁸ células/mL. Uma alíquota de 50 µL desta diluição foi distribuída sobre a superfície do meio sólido em placas de petri para formar o tapete de células sobre o gel de ágar. Após deixar secar as amostras bacterianas sobre a placa, poços de 6 mm de diâmetro foram perfurados com um perfurador estéril. Estas cavidades receberam 50µL do óleo essencial. O óleo mineral é utilizado como um controle negativo e 50µL de Tetraciclina como um controle positivo. As placas foram incubadas a 37 ° C e após 24 horas. A atividade antibacteriana é avaliada medindo-se o halo da zona de inibição de crescimento microbiano em torno dos poços. As análises foram realizadas em duplicata e os resultados apresentados como média ± desvio padrão. Os ensaios de atividade antibacteriana foram realizados no laboratório da Universidade Federal do Paraná - Setor Litoral.

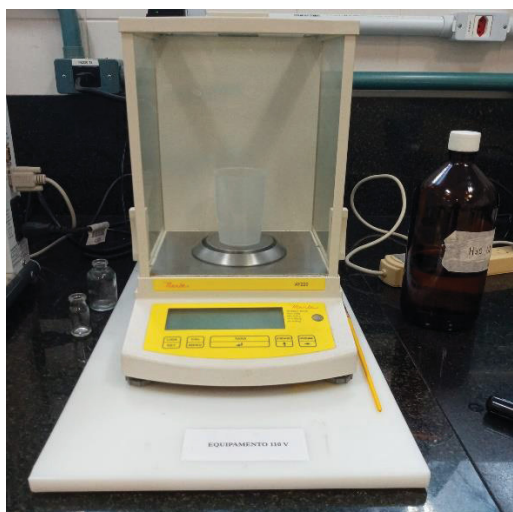
Amostras do OVGP (óleo volátil de geoprópolis e própolis) foram acondicionadas em frasco tipo eppendorf e armazenados no freezer a -4°C.

Para os ensaios de atividade antibacteriana foi necessário o preparo de meios de culturas próprios para crescimento de cada bactéria. Para a bactéria gram-negativa utilizou-se do meio LB para crescimento. O processo consiste em utilizar 2 litros da solução preparada com 400 ml de LA = LB+Ágar. Pesouse em balança analítica 2g de extrato de levedura, 4g de NaCl, 4g de Triptona Soyer e para formar o meio com LA soma-se mais 6g de Ágar. Assim se fez a diluição aos poucos em 400ml de água deionizada. Agitou-se até completa homogeneização.

No preparo do meio adequado a bactéria gram positiva *Staphylococcus aureus*, se utilizou a TS (Triptona Soyer). A preparação se deu utilizando 20,4 gramas de TRIPTONA SOYER em pó + 400ml de água deionizada, diluindo aos poucos. Após essa etapa, a mistura foi colocada em um agitador até sua completa homogeneização. Cada colônia de bactérias é cultivada em uma placa. Utilizou-se o meio LA para *E.coli* e TS para *S.aureus*.

Posteriormente foi necessário o preparo do pré inóculo dessas bactérias, separando 50 ml de LB duas a três colônias isoladas da bactéria. Em um Elenmeyer, deixou-se em agitação a 37 ° C durante 24 horas. Após esse período verificou-se que o líquido estava turvo para se comprovar a inoculação. Após este período, fez-se uma diluição de 1:5 ou seja, em 10 ml de LB se acrescentou 2 ml de bactérias para obter uma suspensão contendo cerca de 2:10 células/mL (FIGURAS 10 a 15).

FIGURA 10- PESAGEM



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA-11 HOMOGENEIZAÇÃO LB



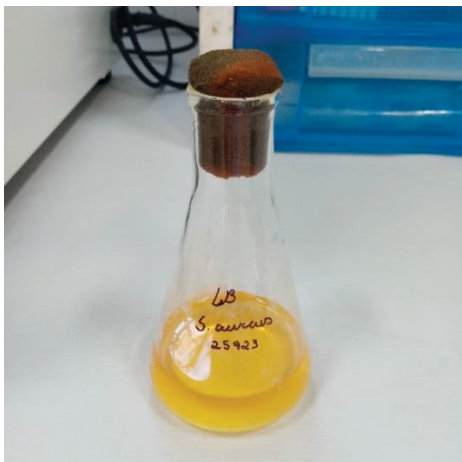
Fonte: a autora, 2023

FIGURA 12- LA-BACTÉRIA *E.coli*

Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 13- AUTOCLAVE

Fonte: a autora, 2023

FIGURA 14 – TS BACTÉRIA *S.aureus*

Fonte: a autora, 2023.

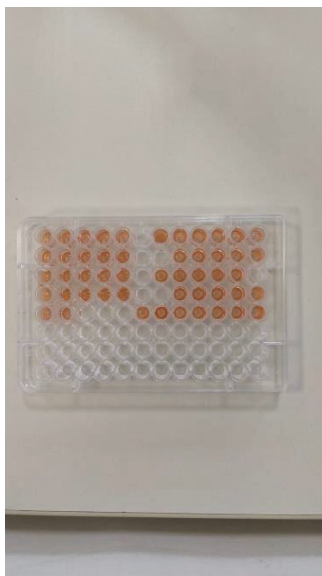
FIGURA 15- AGITADOR

Fonte: a autora, 2023

9.2.4 METODOLOGIA DE VERIFICAÇÃO DE SUSPENSÃO DE CÉLULAS

A suspensão de células pode ser medida através do aparelho Infinite Nano- TECAN leitor de microplaca, preenche-se os três primeiros poços da microplaca com 200 μ L de LB puro e as respectivas diluições com as bactérias, para que o leitor possa medir a Densidade Ótica e atestar a quantidade de células.

FIGURA 16 – MICROPLACA PARA ANÁLISE DO (DENSIDADE ÓTICA)



Fonte: a autora, 2023.

9.2.5 PROCEDIMENTO

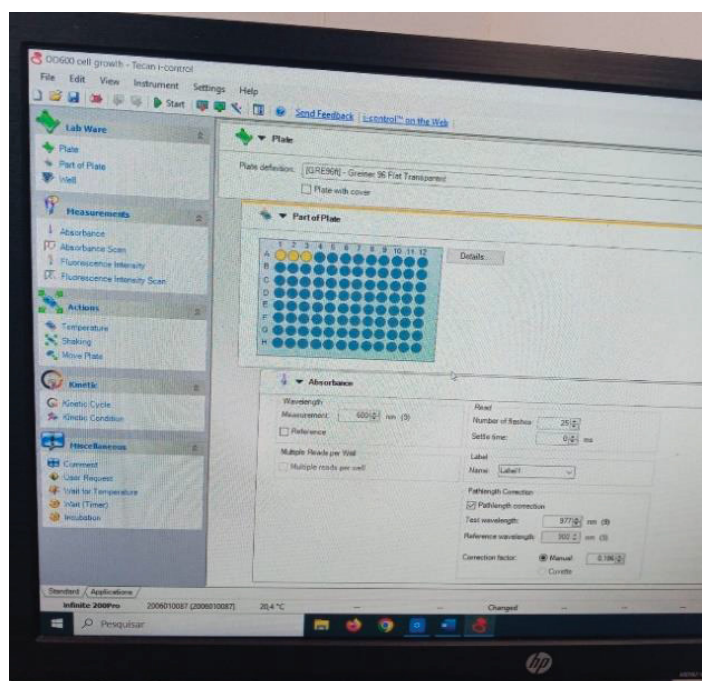
No primeiro passo colocou-se a microplaca com as diluições. Esperou-se o aparelho parar de piscar para abrir o programa I Control 2.0 no computador. Executou-se em dois clicks *infinet 200 Pro*, a opção cancelar a janela, clicar em *file*, clicar em *open OD 600 cell growth*, clicar em *start*. Selecionou-se os três poços e calculou-se dessa forma: seleciona os poços das bactérias e subtrai o meio o que resulta na quantidade de células (**FIGURAS 17 E 18**).

FIGURA 17 - APARELHO INFINITE NANO- TECAN



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA18- PROGRAMA I CONTROL 2.0



Fonte: a autora, 2023.

Após a verificação da quantidade de células, uma alíquota de 50 μ L desta diluição foi distribuída sobre a superfície do meio sólido em placas de petri para formar o tapete de células sobre o gel de ágar. Depois de deixar secar as amostras bacterianas sobre a placa, poços de 6 mm de diâmetro foram perfurados com pipeta de pasteur estéril. Estas cavidades receberam 30 μ L do óleo essencial, 30 μ L de óleo mineral utilizado como um controle negativo e 30 μ L de Antibiótico Tetraciclina concentrada em 100 μ L como um

controle positivo. As placas foram incubadas a 37°C e após 24 horas, a atividade antibacteriana foi avaliada medindo o halo da zona de inibição de crescimento microbiano em torno dos poços. As análises foram realizadas em duplicata e os resultados medidos com um paquímetro apresentados como média \pm desvio padrão. Os ensaios de atividade antibacteriana foram realizados no laboratório da Universidade Federal do Paraná - Setor Litoral. Essa metodologia pode ser observada nas **FIGURAS 19 a 25**.

FIGURA 19-DILUIÇÃO DA LB E TS



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 20- TAPETE ÁGAR



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 21- CABINE DE FLUXO CULTURA LAMINAR NÍVELII



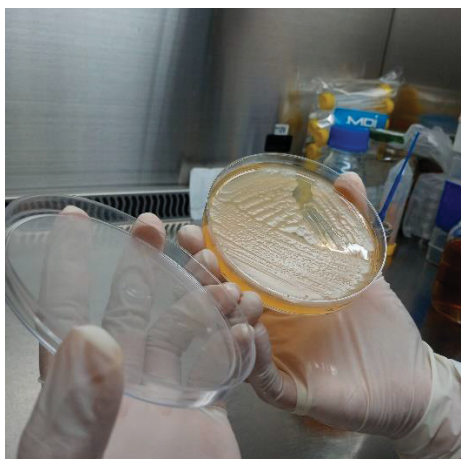
Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 22-ESTUFA DE BACTERIOLÓGICA



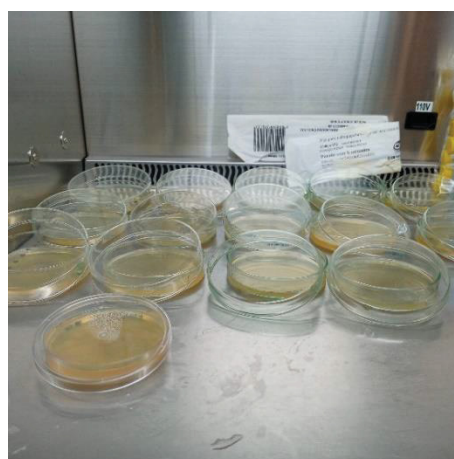
Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 23 - COLONIAS ISOLADAS DE BACTÉRIAS



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 24 - PLACAS DE BACTÉRIAS PRONTAS



Fonte: a autora, 2023

FIGURA 25- PAQUIMETRO



Fonte: a autora, 2023.

10. ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

10.1 LINHAGENS BACTERIANAS

Os microrganismos utilizados nos testes foram fornecidos pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular – LMBM, da Universidade Regional do Cariri – URCA, sob Coordenação do Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho. Foram utilizadas linhagens padrão de bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC25923 e resistente SA10) e *Escherichia coli* (ATCC25922 e resistente EC06) com perfil de resistência descrito na (TABELA 3).

TABELA 3. ORIGEM BACTERIANA E PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS

Bactéria	Origem	Perfil de Resistência
<i>Staphylococcus aureus</i> SA10	Ferida Cirúrgica	Oxa, Gen, Tob, Ami, Can, Neo, Para, But, Sis, Net
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	ATCC	–
<i>Escherichia coli</i> EC06	Ferida Cirúrgica	Ast, Ax, Amp, Ami, Amox, Ca, Cfc, Cf, Caz, Cip, Clo, Im, Can, Szt, Tet, Tob
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	ATCC	–

Ast - Aztreonam ; Ax - Amoxicillina ; Amp – Ampicillina; Ami - Amicacina; Amox – Amoxicillina; Ca - Cefadroxil; Cfc - cefaclor; Cf - Cefalotina; Caz - Ceftazidimida; Cip - Ciproflaxacina; Clo – Clorafenicol; Im - Imipenem; Can - Canamicina; Szt – sulfametrim; Tet - Tetraciclina; Tob - Tobramicina; Oxa - Oxacillina; Gen - Gentamicina; Neo - Neomicina ; Para - paramomicina; But - Butirosina; Sis – Sisomicina; Net – Netilmicina; (-) Ausência de resitência ou absence of resistance or tolerância sem relevância clínica.

10.2 PREPARO E PADRONIZAÇÃO DE INÓCULOS BACTERIANOS

Culturas de bactérias ficaram mantidas a 4°C em Heart Infusion Agar – HIA. Antes dos testes, as linhagens foram repassadas para o meio HIA e incubadas a 37°C por 24 horas. As linhagens bacterianas ativas foram inoculadas em *Brain Heart Infusion* –

BHI na concentração recomendada pelo fabricante, e incubadas nas mesmas condições citadas anteriormente. Suspensões com crescimento bacteriano foram diluídas em BHI em concentração de 10% até a obtenção de 10^5 céls/mL (JAVADPOUR *et al.*, 1996).

10.3 ANTIBIÓTICOS

Gentamicina, Canamicina e Neomicina foram adquiridos da Sigma Chemical Corporation, St. Louis, MO, EUA. Todos os antibióticos foram dissolvidos em água esterilizada antes da utilização.

10.4 REALIZAÇÃO DE ENSAIOS ANTIBACTERIANOS.

Alguns ensaios microbiológicos igualmente foram realizados no Laboratório de Microbiologia Aplicada a Odontologia – LaMAO da Faculdade CECAPE, sob coordenação do Prof. Dr. Edinaldo Fagner Ferreira Matias.

Avaliação da Atividade Antibacteriana com Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) in vitro por contato direto

Os ensaios para determinação da CIM do Própolis (PMq) e do óleo essencial (EOPMq) de abelha nativa da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* [1024 µg/mL], antibióticos (Gentamicina, Canamicina e Neomicina) [2500 µg/mL] foram efetuados através do Método de Microdiluição em Caldo, com concentrações que variaram [$C_{inicial}/2$] a [$C_{inicial}/11$]. As suspensões bacterianas foram diluídas 1:10 em Caldo BHI para obtenção da concentração final de 10^5 cels/mL (SADER *et al.*, 2003). As amostras de produtos de teste foram preparadas em concentração dobrada, onde as concentrações iniciais ($C_{inicial}$) foram: PMq e EOPMq [1024 µg/mL], antibióticos [2500 µg/mL] em relação a concentração inicial e volumes de 100µL foram diluídos seriadamente 1:1 em caldo BHI 10%. Em cada cavidade com 100µL do meio de cultura uma amostra suspensão bacteriana diluída 1:10. Controles negativos com o meio de cultura, controles positivos (meio + inóculo) e controles de inibição utilizando os produtos testados foram incluídos nos ensaios. As placas preenchidas foram incubadas a 35°C por 24 horas (JAVADPOUR *et al.*, 1996; NCCLS 2000; CLSI 2002). Para evidenciar a CIM das amostras, foi utilizada uma solução indicadora de resazurina sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após a incubação, 20µL da solução

indicadora foram adicionados em cada cavidade e as placas foram incubadas por 1 hora em temperatura ambiente. A mudança de coloração azul para rosa devido a redução da resazurina indicara o crescimento bacteriano (PALOMINO *et al.*, 2002), auxiliando a visualização da CIM, definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano, evidenciado pela cor azul inalterada.

11 ATIVIDADE MODULADORA DA AÇÃO ANTIBIÓTICA IN VITRO POR CONTATO DIRETO

Para avaliação da Própolis (PMq) e do óleo essencial (EOPMq) de abelha nativa da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* [1024 µg/mL], antibióticos (Gentamicina, Canamicina e Neomicina) [2500 µg/mL], a CIM foram avaliadas na presença e na ausência do PMq e EOPMq em microplacas de 96 poços estéreis.

PMq ou EOPMq foi misturado em caldo BHI 10% em concentrações subinibitórias (CIM/8). As soluções de antibióticos foram preparadas com água destilada estéril em concentração dobrada [2500 µg/mL] em relação a concentração inicial definida e volumes de 100 µL serão diluídos seriadamente 1:1 em caldo BHI 10%. Em cada cavidade com 100 µL do meio de cultura contem a suspensão bacteriana diluída (1:10) (NCCLS 2000; CLSI 2002). Os mesmos controles utilizados na avaliação da CIM para os produtos de teste foram utilizados (SATO *et al.*, 2004, modificado). As placas preenchidas foram incubadas a 35°C por 24 horas e a leitura foi evidenciada pelo uso de resazurina sódica como citado anteriormente.

Análise estatística dos ensaios microbiológicos

Os resultados da CIM obtidos em triplicata nos testes de modulação da resistência bacteriana foram tabulados em planilha utilizando software Microsoft Excel 2010, e aplicando a fórmula de média geométrica e cálculo do desvio obtendo dados paramétricos e possíveis de submissão a análise estatística e teste de significância.

Para a análise estatística, os dados expressos pela média geométrica ± erro padrão da média (EPM) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de significância Bonferroni, considerando diferença significativa quando $p < 0,001$, utilizando o software *GraphPad Prisma 5.0* (MATIAS *et al.*, 2013)

12 RESULTADOS E DISCUSSÕES

12.1.1 Características físicas das amostras de própolis e geoprópolis coletadas no litoral do Paraná.

Os aspectos geográficos são elementos importantes para se apresentar o relevo, clima e vegetação de um determinado local. O litoral do Paranaense tem algumas características peculiares que se difere de município para município, a saber mesmo que inserido no mesmo bioma Floresta Atlântica, descrito como o clima tropical úmido, detém localidades com temperaturas, ar, quantidade e algumas características de vegetação distintas.

Nas áreas mais urbanas como a cidade de Paranaguá PR com menos vegetação o clima no verão, apresenta temperaturas mais elevada, se comparado a locais com maior conservação de mata nativa. Trata-se de variações em relação a umidade e qualidade do ar, por exemplo. Realizou-se a coleta tanto em área rural como urbana trazendo os diferentes ambientes do litoral Paranaense.

A geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* coletada em Paranaguá na área urbana se assemelha a uma pedra de basalto preta e brilhante um pouco úmida e com muito geo(Terra). Contudo, entre outono/inverno e verão não apresentou distinção entre as amostras. A própolis da espécie *Tetragonisca angustula* coletada no mesmo local acima mencionado, revela se como uma casca de arvore seca, com pouca cera e pouco pólen.

Já a geoprópolis coletada em Paranaguá PR em área rural, porém muito próxima da área urbana, se assemelha a um carvão mineral um pouco úmido, com pouco geo se comparado as outras coletas realizadas. A amostra de própolis da espécie *Tetragonisca angustula* coletada do mesmo meliponicultor acima mencionado se assemelha a uma casca escura e fina de árvore com muita cera e pouco pólen.

No município de Guaratuba PR a coleta da geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* foi efetuada em ambiente urbano, mas com a vegetação nativa muito próxima do meliponário. A própolis da espécie *Tetragonisca angustula* coletada no mesmo local se caracteriza com textura de casca de árvore fina e úmida.

Retornando ao município de Paranaguá a coleta da geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* se evidencia como uma pedra dura de tonalidade azul escuro,

brilhante menos úmida no inverno com pouco geo, porém na coleta do verão a amostra se mostrou distinta, bem úmida e com muito geo.

No município de Morretes- PR em um ponto alto da serra, realizou-se a coleta da própolis da espécie *Tetragonisca angustula*. A amostra coletada apresenta tonalidade mais clara do que as demais mencionadas, com muita cera e muito pólen, motivo pelo qual seu pigmento se mostrou mais clara. No mesmo local, realizou-se a coleta da geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata*, essa também se mostrou mais clara que as demais, a pedra continha pontos sedimentos brilhantes como um cristal. Em outro ponto de coleta, porém no mesmo município, foi retirado a própolis de *Tetragonisca angustula*, esta continha aspecto de casca de árvore mais úmida e com muita cera.

12.1.2 Características físicas das amostras de geoprópolis e própolis na área urbana no município de Paranaguá PR, (FIGURAS 26 a 29).

FIGURA 26 – GEOPRÓPOLIS NA CAIXA DE *Mandaçaia quadrifasciata*



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 27 - GEO

Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 28 - VEGETAÇÃO

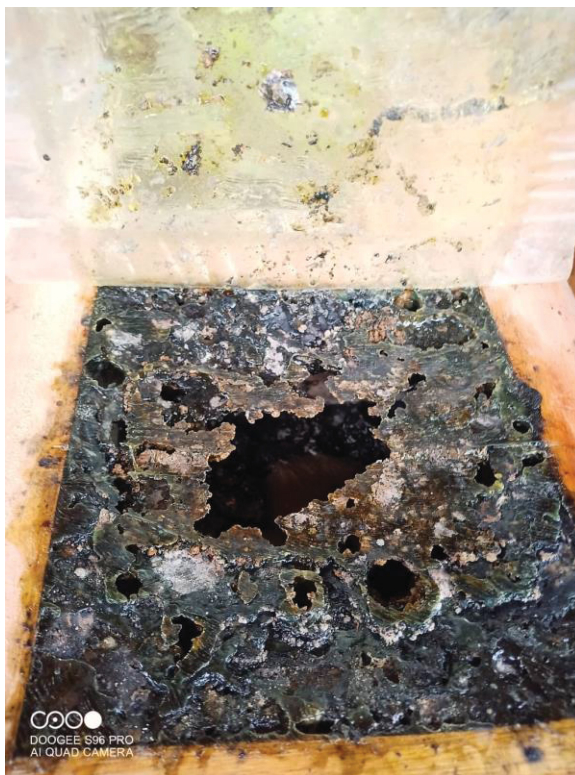
Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 29 - PRÓPOLIS NA CAIXA ESPÉCIE *Tetragonisca angustula*

Fonte: a autora, 2023.

12.1.3 Características físicas das amostras de geoprópolis e própolis na área rural e meio urbano no município de Paranaguá PR, (FIGURAS 29 a 32).

FIGURA 30 – GEOPRÓPOLIS NA CAIXA DE *Mandaçaia quadrifasciata*



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 31 - GEO



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 32 - VEGETAÇÃO



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 33 - PRÓPOLIS NA CAIXA ESPÉCIE *Tetragonisca angustula*



Fonte: a autora, 2023.

12.1.4 Características físicas das amostras de geoprópolis e própolis na área urbana no município de Guaratuba-PR, (FIGURAS 34 a 37).

FIGURA 34 - FOTOS GEOPRÓPOLIS NA CAIXA DE *Mandaçaia quadrifasciata*



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 35 – GEO



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 36 - VEGETAÇÃO



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 37 – PRÓPOLIS NA CAIXA DE *Tetragonisca angustula*



Fonte: a autora, 2023.

12.1.5 Características físicas das amostras de geoprópolis e própolis na área rural no município de Paranaguá -PR, (FIGURAS 38 a 41).

FIGURA 38 - FOTOS GEOPRÓPOLIS NA CAIXA DE *Mandaçaiia quadrifasciata*



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 39 -GEO

Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 40 - VEGETAÇÃO

Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 41 - PRÓPOLIS NA CAIXA DE *Tetragonisca angustula*

Fonte: a autora, 2023.

12.1.6 Características físicas das amostras de geoprópolis e própolis na área rural no município de Morretes-PR, (FIGURAS 42 a 45).

FIGURA 42 - FOTOS GEOPRÓPOLIS NA CAIXA DE *Mandaçaia quadrifasciata*



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 43 - GEO



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 44 - VEGETAÇÃO



Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 45 – MORRETES-PR PRÓPOLIS *Tetragonisca angustula*



Fonte: a autora, 2023.

12.1.7 Características físicas das amostras de geoprópolis e própolis na área rural em outro ponto de coleta no município de Morretes-PR, (FIGURAS 46 e 47).

FIGURA 46 – MORRETES-PR PRÓPOLIS *Tetragonisca angustula*



Fonte: a autora, 2023

FIGURA 47 – VEGETAÇÃO

Fonte: a autora, 2023.

13 RESULTADO DA EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS VOLÁTEIS DE GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS NO LITORAL DO PARANÁ.

13.1 DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO DE HIDRODESTILAÇÃO E TÉCNICAS DE RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO VOLÁTIL DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS.

Efetuuou-se o desenvolvimento de um protocolo de hidrodestilação. As amostras da própolis passaram por um processo de testes dentro da metodologia padrão para extração de óleo volátil de plantas. Porém, não se obteve sucesso na extração dos óleos essenciais da própolis e geoprópolis seguindo esse protocolo. Por essa razão desenvolveu-se um o protocolo para extração por hidrodestilação de óleo essencial de geoprópolis e própolis afim de melhorar o rendimento de extração.

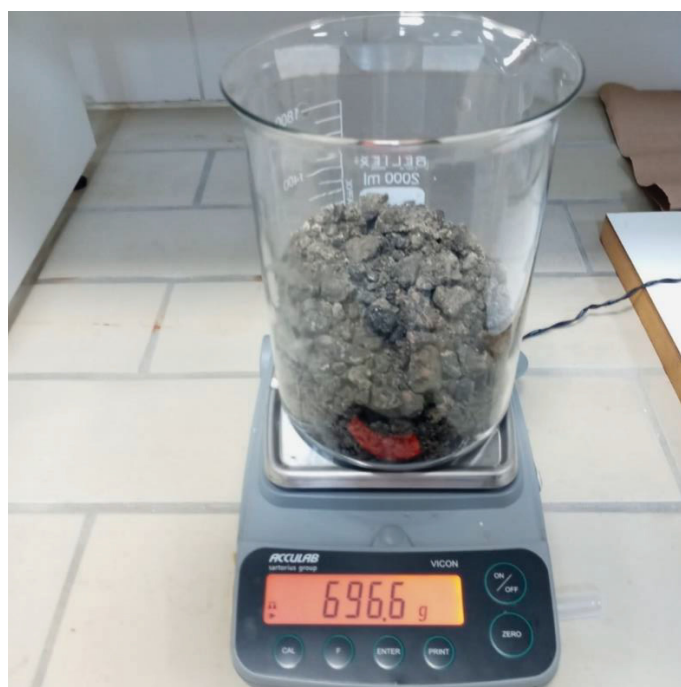
Efetuuou-se repetições de hidrodestilação com a mesma biomassa. Após a primeira extração o material permaneceu no aparelho desligado por 24h. Após este período de pausa repetiu-se a extração em 3 bateladas. Todo esse processo pode ser observados abaixo nas **(FIGURAS 48 a 51)**.

FIGURA 48- PRÓPOLIS TRITURADAS PARA O PROCESSO DE DISSOLUÇÃO E DILUIÇÃO, POSTERIORMENTE HIDRODESTILAÇÃO.



Fonte: a autora, 2022.

FIGURA 49- PESAGEM DA PRÓPOLIS TRITURADA PARA O PROCESSO DE DISSOLUÇÃO E DILUIÇÃO, E POSTERIOR HIDRODESTILAÇÃO.



Fonte: a autora, 2022.

FIGURA 50- PRÓPOLIS TRITURADA – DISSOLVIDA E DILUIDA PARA A HIDRODESTILAÇÃO.



Fonte: a autora, 2022.

FIGURA 51 – SISTEMA DE HIDRODESTILAÇÃO.

Fonte: a autora, 2022.

No processo de extração da porção volátil da própolis da abelha *Mandaçaiá quadrifasciata* foi possível observar que há separação do geo da própolis. Assim que o material entra em ebulição, a própolis se apresenta menos densa que o geo subindo à superfície.

Abaixo fica o geo de coloração acizentada e acima a própolis de pigmentação azulada (**FIGURA 52**).

FIGURA 52- SEPARAÇÃO ENTRE O GEO E PRÓPOLIS NO PROCESSO DE HIDRODESTILAÇÃO



Fonte: a autora, 2022.

Houve também a formação do hidrolato, subproduto do processo de destilação na extração dos óleos voláteis. (FIGURA 53).

FIGURA 53- HIDROLATO APÓS A EBULIÇÃO NA HIDRODESTILAÇÃO



Fonte: a autora, 2022.

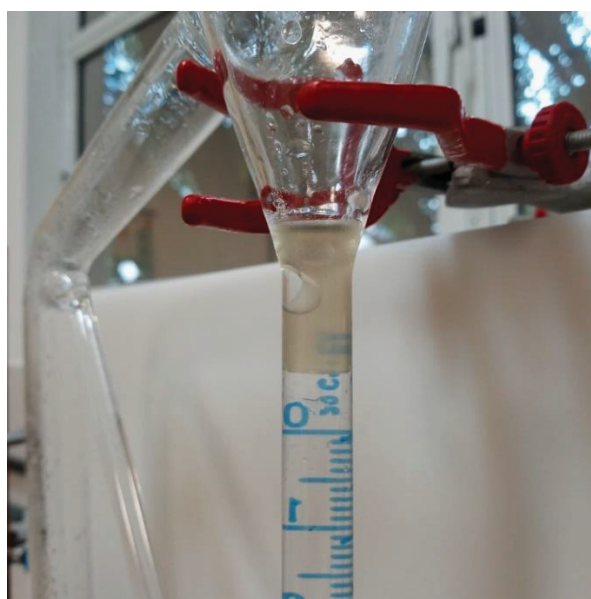
Após a extração da fração volátil, as amostras foram centrifugadas para retirada do restante de água e armazenadas em eppendorfs (**FIGURA 54**).

FIGURA 54- CENTRIFUGA COM EPPENDORFS PARA SEPARAÇÃO DA ÁGUA E ÓLEO ESSENCIAL



Fonte: a autora, 2022.

FIGURA 55- FRAÇÃO VOLÁTIL APÓS SEPARAÇÃO DO HIDROLATO-DENSO E DE COLORAÇÃO TURVA.



Fonte: a autora, 2022.

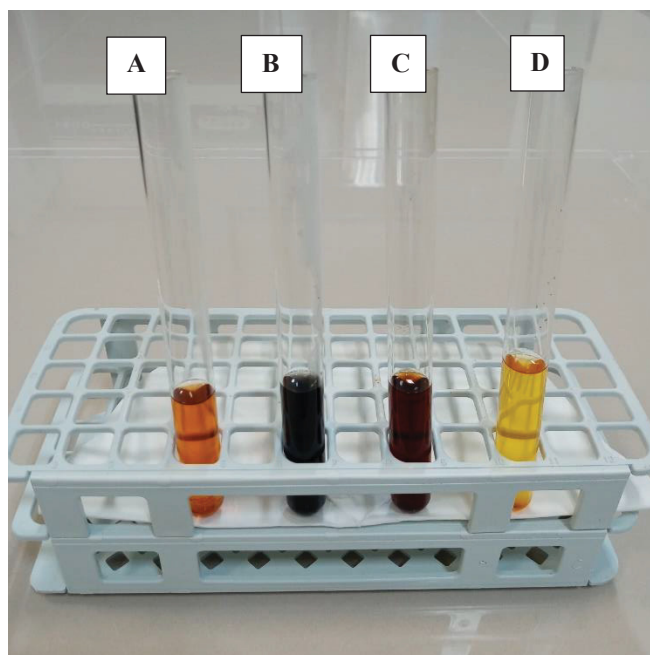
14.RESULTADOS DA POLICROMIA DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS NO MUNICÍPIOS DE GUARATUBA , MORRETES E PARANAGUÁ-PR .

Algumas abelhas da mesma espécie possuem comportamentos diferentes de seletividade em coleta de resinas das espécies vegetais, motivo pelo qual a tonalidade das própolis se diferencia entre si. Nesse sentido o pensamento de FREIRE corrobora com esse argumento que a razão principal para variações de cores está na preferência da abelha pela origem botânica. O estudo de FREIRE (2018), avaliou a origem e diferença da cor e outras características organolépticas de dois tipos de tonalidade de própolis (verde e preta), produzidas por abelhas *Apis mellifera* L., africanizadas, em duas diferentes localidades. O estudo demonstrou que as tonalidades de própolis de diferentes regiões é atribuída a origem botânica. O estudo evidenciou também que a espécie vegetal *Baccharis dracunculifolia* dá origem a cor verde da própolis da abelha *Apis Mellifera*, já a espécie *Vernonia rubriramea* confere a tonalidade preta (FREIRE, 2018, p.1-45).

Esse estudo constatou a seletividade das espécies *Mandaçaia quadrifasciata* e *Tetragonisca angustula* na coleta da resina de plantas, que confere tonalidades diferentes de cores nos extratos de geoprópolis e própolis produzido por essas espécies no litoral Paranaense.

Mesmo que inseridos no mesmo bioma a pesquisa demonstrou que abelhas da mesma espécie, possuem comportamento distintos na escolha da vegetação para coleta de resina. As tonalidades dos extratos de geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* nos municípios de Guaratuba-PR e Paranaguá-PR, apresenta-se na maioria das amostras a tonalidade azul, ao contrário do município de Morretes-PR que apresenta a coloração amarelada. Por outro lado, constatou-se que a cor do extrato da própolis da espécie *Tetragonisca angustula* é predominantemente amarelada, mostrando a seletividade de maneira oposta a outra espécie. Essa diferenciação de tonalidades de cores podem ser observadas nas (FIGURAS 56 a 58).

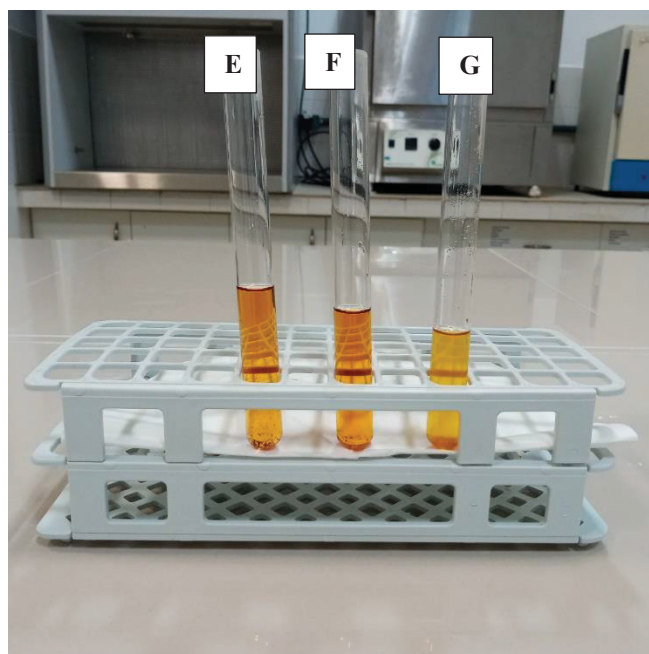
FIGURA 56 - PIGMENTAÇÃO DA PRÓPOLIS *Tetragonisca angustula*



Legenda: A- Morretes , B – Guaratuba , C – Morretes , D- Paranaguá.

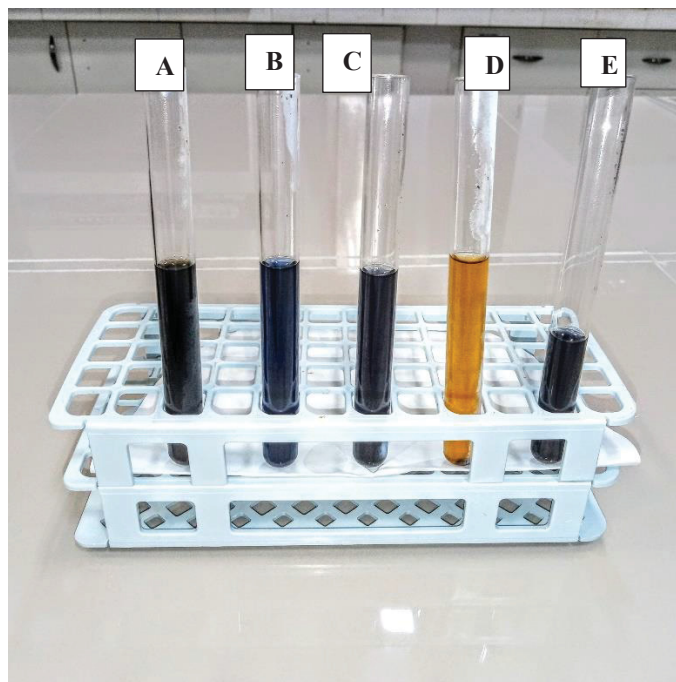
Fonte: a autora, (2023).

FIGURA 57 - PIGMENTAÇÃO DA PRÓPOLIS *Tetragonisca angustula*



Legenda: E- Guaratuba, F - Paranaguá, G - Paranaguá.

Fonte: a autora, (2023).

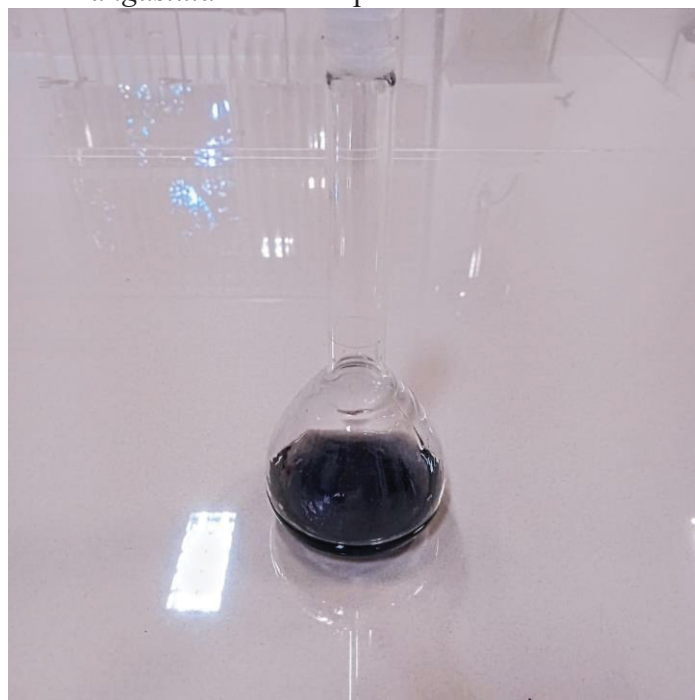
FIGURA 58 - PIGMENTAÇÃO DA GEOPRÓPOLIS *Mandaçaia quadrifasciata*

Legenda: A- Paranaguá, B - Paranaguá, C- Guaratuba, D- Morretes, E- Paranaguá.

Fonte: a autora, (2023).

No litoral do Paraná meliponicultores locais evidenciam a descoberta da coloração azulada dos extratos da geoprópolis fabricadas pelas abelhas da espécie *Mandaçaia quadrifasciata*, tonalidade de geoprópolis e própolis nunca antes descritos. Para além da espécie *Mandaçaia quadrifasciata*, esse estudo é o primeiro a evidenciar a que coloração azulada não é apenas na geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata*, mas igualmente no extrato da própolis da espécie *Tetragonisca angustula*, das amostras coletadas no município de Guaratuba, como pode ser visto na **(FIGURA 59)**.

FIGURA 59- PIGMENTAÇÃO AZULADA DA PRÓPOLIS *Tetragonisca angustula* no município de Guaratuba PR



Fonte: a autora, (2023).

15. RESULTADOS DOS RENDIMENTOS DOS ÓLEOS VOLÁTEIS DA GEOPRÓPOLIS E PRÓPOLIS

Para a determinação do rendimento do óleo extraído por hidrodestilação, a cada 100g do material, pesou-se o eppendorf vazio em balança analítica e posteriormente os eppendorfs com os óleos essenciais extraídos de cada amostra. Para o rendimento dos óleos voláteis utilizou cálculo de porcentagem adaptada de (GIRARD et. al, 2007).

$$= (PE - PGP / PP) / PGP$$

PE (peso eppendorf) PGP (peso do Geoprópolis) ou PP (peso do própolis).

Nas análises de rendimento verificou-se maior rendimento para a geoprópolis e própolis das espécies, tanto em peso do material como na quantidade de óleos voláteis no período outono/inverno (**TABELA 4**).

TABELA 4 - RENDIMENTO NO PERÍODO OUTONO/INVERNO DAS EXTRAÇÕES DO ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE *Mandaçaia quadrifasciata*.

RENDIMENTO DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS - <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>			
ORIGEM	PGP(g)	PE(g)	%
PARANAGUÁ PR	300	3,29	1,1%
PARANAGUÁ PR	210	0,89	0,4%
MORRETES PR	106,92	1,05	1,0%
PARANAGUÁ PR	45,27	0,38	0,8%
PARANAGUÁ PR	75,0	0,61	0,8%

RENDIMENTO DO ÓLEO VOLÁTIL DA PRÓPOLIS - <i>Tetragonisca angustula</i>			
ORIGEM	PP(g)	PE(g)	%
GUARATUBA PR	112	0,83	0,7%
MORRETES PR	52	0,29	0,6%
MORRETES PR	70	0,00	0,0%
PARANAGUÁ PR	0,34	0,02	0,1%
PARANAGUÁ PR	22,0	0,01	0,1%
PARANAGUÁ PR	80,0	0,00	0,0%
GUARATUBA PR	100,0	0,00	0,0%

Tabela 4 – Rendimento do óleo volátil do peso da geoprópolis (PGP) e peso da própolis (PP) do Eppendorf (PE) das espécies de abelha nativa da espécie *mandaçaia quadrifasciata* e *Tetragonisca angustula*.

Fonte: a autora (2022).

TABELA 5 - RENDIMENTO NO PERÍODO VERÃO DAS EXTRAÇÕES DO ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE *Mandaçaia quadrifasciata*

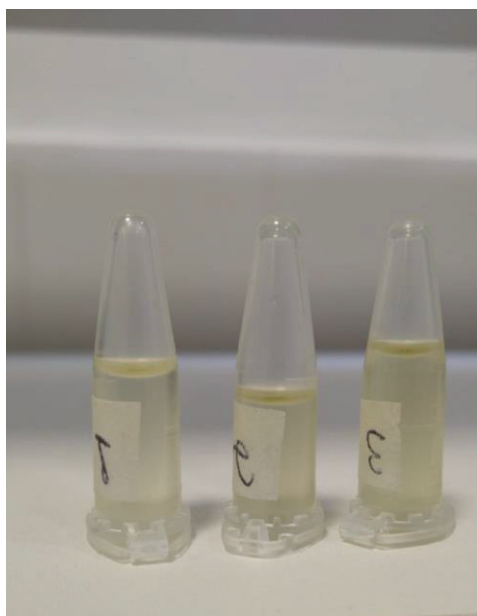
RENDIMENTO ÓLEO ESSENCIAL DA GEOPRÓPOLIS - <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>			
ORIGEM	PGP(g)	PE (g)	%
PARANAGUÁ PR	304,58	0,79	0,26%
PARANAGUÁ PR	437,50	0,88	0,20%
PARANAGUÁ PR	300,00	2,27	0,76%
MORRETES PR	356,62	0,26	0,07%
GUARATUBA PR	130,00	0,45	0,34%

RENDIMENTO ÓLEO ESSENCIAL DA PRÓPOLIS - <i>Tetragonisca angustula</i>			
ORIGEM	PP(g)	PE(g)	%
PARANAGUÁ PR	11,05	0,00	0,00%
PARANAGUÁ PR	71,35	0,00	0,00%
PARANAGUÁ PR	75,90	0,00	0,00%
MORRETES PR	3,47	0,00	0,00%
GUARATUBA PR	15,82	0,00	0,00%

Fonte: a autora (2023).

Tabela 5 – Rendimento do óleo volátil do peso da geoprópolis (PGP) e peso da própolis (PP) do Eppendorf (PE) das espécies de abelha nativa da espécie *mandaçai* *quadrifasciata* e *Tetragonisca angustula*.

FIGURA 60- ÓLEO VOLÁTIL DE APENAS 1 EXTRAÇÃO, ACONDICIONADO APÓS CENTRIFUGAÇÃO



Fonte: a autora (2022).

15.1 RESULTADO DA TÉCNICA DE RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE *Mandaçai quadrifasciata*.

Nas repetições de extração utilizando a mesma biomassa, constatou-se que o tempo de pausa que o material permaneceu submerso em água destilada favoreceu a energia cinética entre as moléculas superficiais, facilitando por meio da evaporação o arraste dos óleos voláteis revelando maior rendimento, como apresentado na (TABELA 6).

TABELA 6- RENDIMENTO DO ÓLEO VOLÁTIL , DE REPETIÇÃO DE EXTRAÇÃO.

PERÍODO INVERNO						
TÉCNICA DE AUMENTO DO RENDIMENTO DE ÓLEO VOLÁTIL DA PRÓPOLIS- <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>						
ORIGEM	PGP	1x- PE	2x- PE	SOMA	%	
PARANAGUÁ PR	300	3,29	7,45	10,7	3,58%	
PERÍODO VERÃO						
TÉCNICA DE AUMENTO DO RENDIMENTO DE ÓLEO VOLÁTIL DA PRÓPOLIS- <i>Mandaçaia quadrifasciata</i>						
ORIGEM	PGP	2x- PE	3x- PE	4x- PE	SOMA	%
PARANAGUÁ PR	720,00	2,26	8,52	4,09	14,87	2,07%
GUARATUBA PR	230,00	0,23	0,45	1,03	1,71	0,74%

PGP (Peso Geo-Própolis)

PE (Peso do Eppendorf)

1x - PE - 1 Extração Peso Eppendorf

2x- PE- 2 Extração Peso Eppendorf

3x- PE- 3 Extração Peso Eppendorf

4x- PE- 4 Extração Peso Eppendorf

FIGURA 61 - 1º EXTRAÇÃO COM A MESMA BIOMASSA APÓS 24 h IMERSA EM ÁGUA DESTILADA.



Fonte: a autora (2023).

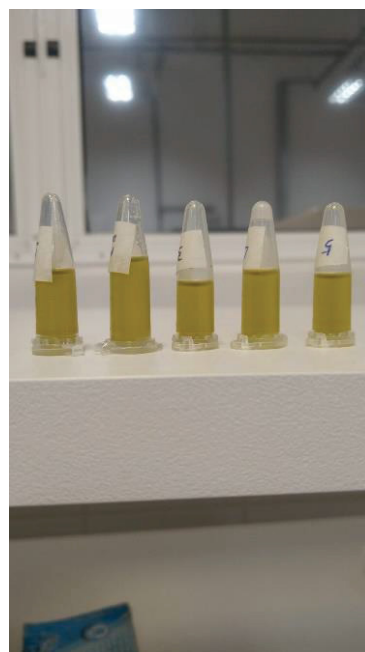
FIGURA 62 e 63- 2º, 3º E 4ª EXTRAÇÃO COM A MESMA BIOMASSA APÓS 24h DE REPOUSO EM ÁGUA DESTILADA.

**FIGURA 62- CLEVANGER
COM ÓLEO VOLÁTIL DE GEOPRÓPOLIS**



Fonte: a autora (2023).

**FIGURA 63- EPPENDORF'S
CENTIFUGADOS**



Fonte: a autora (2023).

16. RESULTADOS DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS VOLÁTEIS DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS

A origem botânica da própolis é uma análise de sua composição química comparada a uma provável fonte vegetal. Determinar a origem geográfica e sobretudo a origem vegetal é relevante no controle de qualidade, bem como na padronização de amostras de própolis para eficácia e segurança no desenvolvimento de fármacos.

Contudo, a influência da composição química da própolis não está somente atribuída a origem botânica, mas, além disso, a composição química pode ser atribuída a enzimas salivares das abelhas produtoras da própolis. Os autores GHISALBERTI (1979) e MARCUCCI (1995) afirmam que as secreções salivares das abelhas são adicionadas à própolis na colmeia. O autor KONIG (1985), discordam dessa afirmação, pois acredita

que é improvável que a abelha interfira de alguma forma na composição da própolis.

Para essa análise das amostras coletadas no litoral paranaense foram considerados apenas os constituintes que estavam presentes nos óleos essenciais em um percentual igual ou superior a 1%. Na amostra de óleo volátil de geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* foram encontrados e identificados um total de 19 constituintes químicos. Já para espécie *Tetragonisca angustula* foram encontrados 3 constituintes distintos das demais amostras de óleo volátil da geoprópolis: Cis- α -Bergamoteno, Trans- α -Bergamoteno e Naftaleno. Estes resultados são apresentados nas **TABELAS 7 a 9**.

Na **TABELA 7** são apresentados os 11 constituintes químicos da amostra de óleo volátil de geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* coletada na área rural de Paranaguá PR.

TABELA 7– CONSTITUINTE QUÍMICOS ENCONTRADOS NO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023

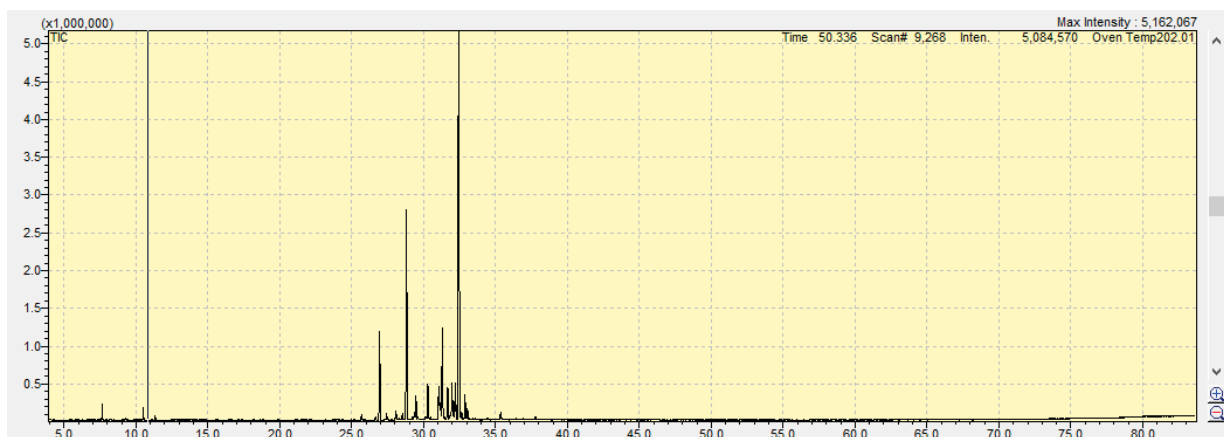
Constituintes	IA teórico*	IA*	IK*	%
<i>α-Copaeno</i>	1374	983	1376	7,71
<i>(E)-Cariofileno</i>	1417	1441	1419	19,70
<i>α-Guaieno</i>	1437	1487	1439	1,76
<i>α-Humuleno</i>	1452	1503	1454	3,10
<i>β-Acoradieno</i>	1469	1524	1470	3,53
<i>ar-Curcumeno</i>	1479	1544	1480	8,08
<i>β-Selineno</i>	1489	1546	1490	2,72
<i>α-Selineno</i>	1498	1550	1498	2,54
<i>α-Bulneseno</i>	1509	1560	1509	3,04
<i>B-Bisaboleno</i>	1505	1567	1505	45,67
<i>δ-Cadineno</i>	1522	1574	1523	2,15
<i>Monoterpenos hidrocarbonetos</i>				0
<i>Monoterpenos oxigenados</i>				0
<i>Sesquiterpenos hidrocarbonetos</i>				100,00
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>				0
Total identificado %				100

*1A: Índice de retenção calculado; IA teórico: Índice de retenção da literatura; IK: Índice de Kovats.

*Index Arithmetical *Index Teorical Arithmetical.

Fonte: a autora, 2023

FIGURA 64 – CROMATOGRAMA DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADA NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023



Fonte: a autora, 2023.

Com base nos resultados exibidos acima, nota-se que o composto majoritário de óleo volátil de geoprópolis da espécie *Mandaçaiia quadrifasciata* é o β -Bisabolene na área rural de Paranaguá-PR.

Na amostra do óleo volátil da geoprópolis da espécie *Mandaçaiia quadrifasciata* do município de Guaratuba-PR na área urbana foram identificados 10 constituintes químicos conforme **TABELA 8**.

TABELA 8– CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADA NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023

Constituintes	IA teórico*	IA*	IK*	%
<i>α-Pineno</i>	932	983	939	9,03
<i>Sabineno</i>	969	1021	975	1,02
<i>Terpinen-4-ol</i>	1174	1235	1177	0,98
<i>α-Copaeno</i>	1374	1441	1376	5,82
<i>Sesquitujeno</i>	1405	1469	1405	1,74
<i>γ-Curcumeno</i>	1481	1546	1482	2,00
<i>ar-Curcumeno</i>	1479	1550	1480	14,94
<i>γ-Himachaleno</i>	1481	1554	1482	1,08

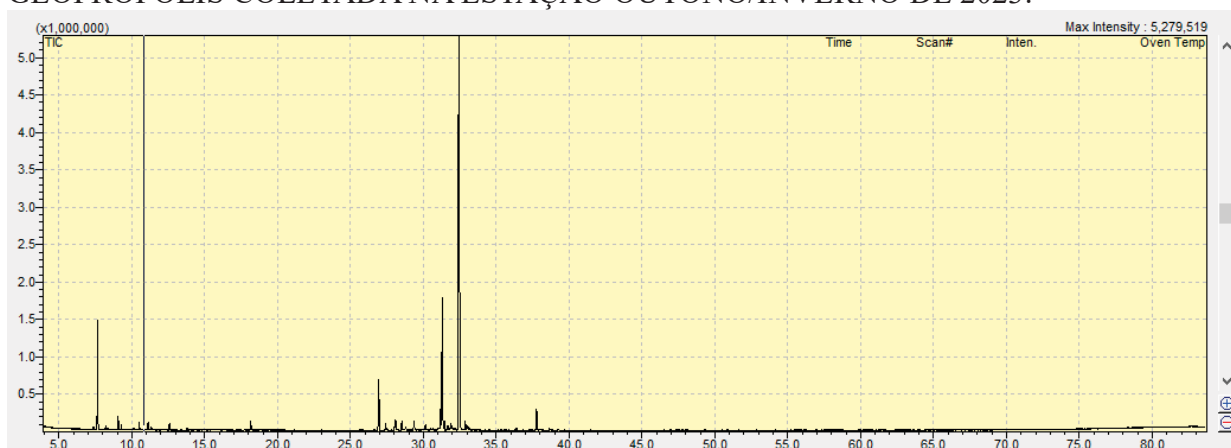
<i>β-Bisaboleno</i>	1505	1582	1505	61,08
<i>(E)-Bisabol-11-ol</i>	1667	1725	1668	2,31
<i>Monoterpenos hidrocarbonetos</i>				10,05
<i>Monoterpenos oxigenados</i>				0,98
<i>Sesquiterpenos hidrocarbonetos</i>				86,66
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>				2,31
Total identificado %				100

*1A: Índice de retenção calculado; IA teórico: Índice de retenção da literatura; IK: Índice de Kovats.

*Index Arithmetical *Index Teorical Arithmetical.

Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 65 – CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADA NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.



Fonte: a autora, 2023.

No município Guaratuba-PR na região urbana observou-se que os compostos majoritários do óleo volátil da geoprópolis são: β -Bisabolene seguido de α -Curcumene e α -Pinene.

A TABELA 9 a seguir, apresenta os 13 compostos identificados do óleo volátil da geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* no ambiente meio rural e meio urbano no município de Paranaguá PR.

TABELA 9– COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023

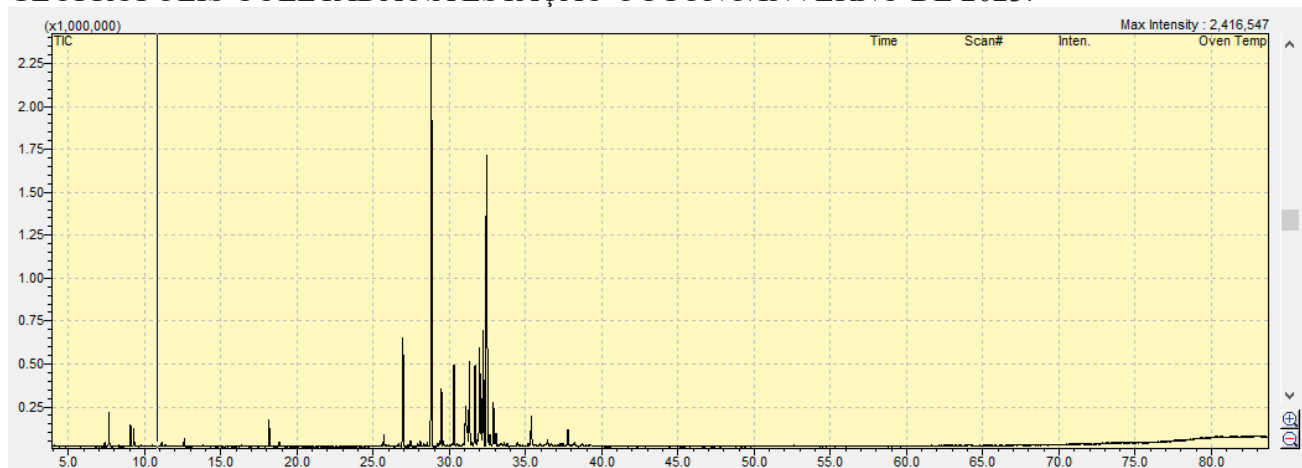
Constituintes	IA teórico*	IA*	IK*	%
<i>α</i> -Pinoeno	932	983	939	1,47
<i>Terpinen-4-ol</i>	1174	1235	1177	1,41
<i>α</i> -Copaeno	1374	1441	1376	6,92
<i>(E)</i> -Cariofileno	1417	1487	1419	28,48
<i>α</i> -Guaieno	1437	1503	1439	3,44
<i>α</i> -Humuleno	1452	1524	1454	5,21
<i>ar</i> -Curcumeno	1479	1550	1480	5,19
<i>β</i> -Selineno	1489	1560	1490	5,00
<i>α</i> -Selineno	1498	1568	1498	5,90
<i>Germacreno A</i>	1508	1570	1509	2,35
<i>α</i> -Bulneseno	1509	1574	1509	7,28
<i>β</i> -Bisaboleno	1505	1581	1505	24,45
<i>δ</i> -Cadineno	1522	1591	1523	2,90
<i>Monoterpenos hidrocarbonetos</i>				1,47
<i>Monoterpenos oxigenados</i>				1,41
<i>Sesquiterpenos hidrocarbonetos</i>				97,12
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>				0
Total identificado %				100

*1A: Índice de retenção calculado; IA teórico: Índice de retenção da literatura; IK: Índice de Kovats.

*Index Arithmetical *Index Teorical Arithmetical.

Fonte: a autora, 2023

FIGURA 66 – CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADA NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.



Fonte: a autora, 2023.

Já a análise cromatográfica do óleo volátil da geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* no ambiente meio rural e meio urbano no município de Paranaguá-PR evidenciou-se o constituinte majoritário é o (*E*)-Cariofileno seguido de β -Bisaboleno e α -Copaene.

Foram identificados 13 constituintes químicos na amostra de geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* na área urbana próximo ao porto no Município de Paranaguá-PR, conforme (TABELA 9).

TABELA 10– COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADA NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.

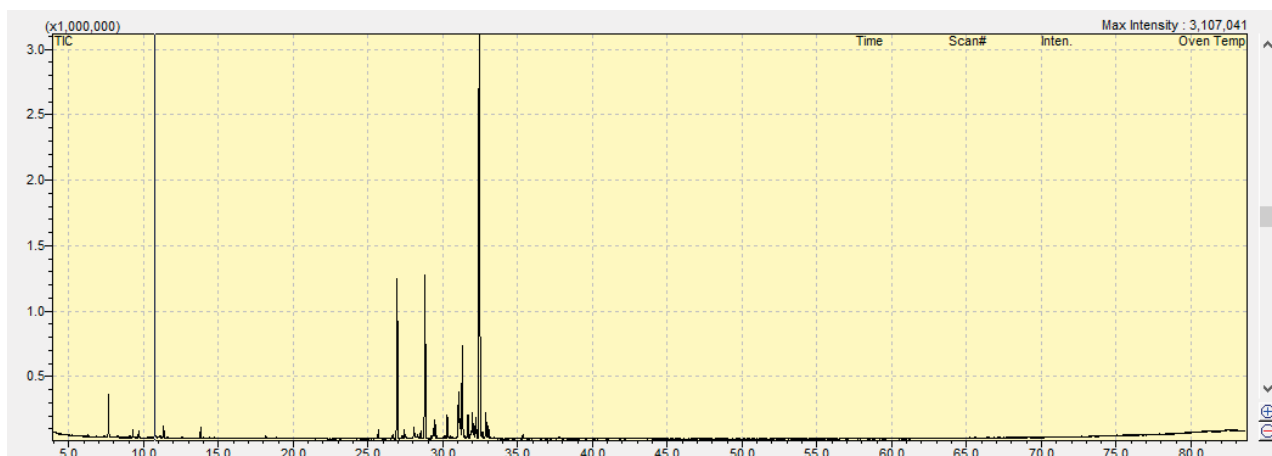
<i>Constituintes</i>	IA teórico*	IA*	IK*	%
<i>α-Pino</i>	932	983	939	2,66
<i>α-Copaeno</i>	1374	1441	1376	14,16
<i>(E)-Cariofileno</i>	1417	1487	1419	14,74
<i>α-Guaieno</i>	1437	1503	1439	1,32
<i>α-Humuleno</i>	1452	1524	1454	1,87
<i>β-Acoradieno</i>	1469	1544	1470	4,74
<i>γ-Curcumeno</i>	1481	1546	1482	1,44
<i>α-Curcumeno</i>	1479	1550	1480	8,02
<i>β-Selineno</i>	1489	1560	1490	1,82
<i>α-Selineno</i>	1498	1567	1498	1,70
<i>α-Bulneseno</i>	1509	1574	1509	1,71
<i>β-Bisaboleno</i>	1505	1581	1505	43,74
<i>δ-Cadineno</i>	1522	1591	1523	2,08
<i>Monoterpenos hidrocarbonetos</i>				2,66
<i>Monoterpenos oxigenados</i>				0
<i>Sesquiterpenos hidrocarbonetos</i>				97,34
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>				0
Total identificado %				100

*IA: Índice de retenção calculado; IA teórico: Índice de retenção da literatura; IK: Índice de Kovats.

*Index Arithmetical *Index Teorical Arithmetical.

Fonte: a autora, 2023

FIGURA 67– CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DO ÓLEO VOLÁTIL DA GEOPRÓPOLIS COLETADA NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.



Fonte: a autora, 2023

Observou-se que os constituintes majoritários do óleo volátil da geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* próximo ao porto de Paranaguá são: β -Bisabolene seguido do (*E*)- Cariofileno e α -Copaene.

Foram identificados 10 constituintes químicos na amostra de geoprópolis da espécie *Tetragonisca angustula* na área urbana no Município de Guaratuba PR, conforme (TABELA 11).

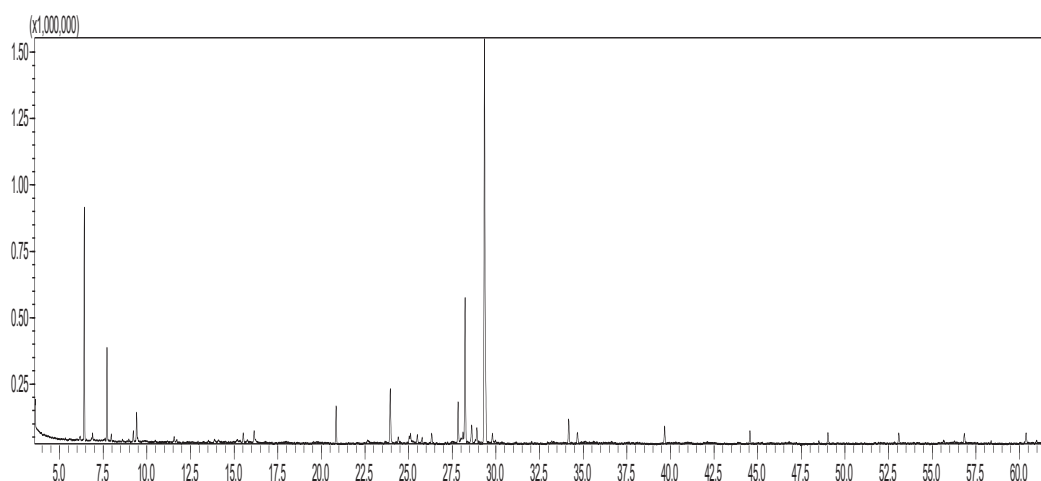
TABELA 11– COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO VOLÁTIL DE PRÓPOLIS DA ESPÉCIE *Tetragonisca angustula*, COLETADA NA ESTAÇÃO INVERNO DE 2022.

Constituintes	TR	Area %	Similaridade (%)
<i>α-Pino</i>	6.521	0.46	92
<i>α-Copaeno</i>	23.981	0.66	95
<i>Sesquitujeno</i>	24.438	0.04	93
<i>δ-Selineno</i>	25.141	0.08	86
<i>Cis-α-Bergamoteno</i>	25.531	0.07	95
<i>Trans-α-Bergamoteno</i>	26.350	0.09	96
<i>Naftaleno</i>	28.644	0.21	94
<i>β-Bisaboleno</i>	29.374	5.37	92

<i>β-Cadineno</i>	29.825	0.10	89
<i>β-cariofileno</i>	34.691	0.11	88
<i>Monoterpenos hidrocarbonetos</i>		0,46	
<i>Monoterpenos oxigenados</i>		0	
<i>Sesquiterpenos hidrocarbonetos</i>		6,41	
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>		0	

Fonte: a autora, 2023.

FIGURA 68– CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DO ÓLEO VOLÁTIL DA PRÓPOLIS COLETADA NA ESTAÇÃO OUTONO/INVERNO DE 2023.



Fonte: a autora, 2023.

O constituinte principal β -bisaboleno encontrado nesse estudo possui aroma balsâmico. É encontrado nas folhas de diversas plantas, como a goiabeira, orégano, limoeiro, bem como em espécies aromáticas da família *Piperaceae*.

Os achados de Felipe e Bica (2017), corroboram com a presente pesquisa, ao destacar a importância dos compostos químicos naturais encontrados em diversos óleos essenciais, e traz a composição química de algumas espécies de plantas com resultados semelhantes ao presente estudo. As plantas descritas são: Arnica da Serra contém que os compostos ar-curcumeno e cariofileno, enquanto que na Copaiba encontra-se β -cariofileno. Também presente no Cravo e folha de Curry indiano. No gengibre tem-se o bisaboleno como principal constituinte, além do ar-curcumeno.

Por fim, as análises cromatográficas das amostras revelaram os constituintes majoritários: β -Bisabolene como principal constituinte, seguido de *E*-Cariofileno, α -Curcumeno, α -Copaene e α -Pinene.

Os metabólicos secundários, dos quais os constituintes químicos em destaque fazem parte, fazem parte e são a classe estruturalmente mais diversa de produto vegetal natural. Por exemplo, os terpenóides, que constituem uma ampla classe, se estrutura pelo alinhamento sequencial de isopentenil pirofosfato (IPP-C5).

Todos os terpenos se diferenciam pela quantidade de carbonos são eles: monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40). Como os monoterpenos têm baixo peso molecular, eles geralmente são voláteis.. Os sesquiterpenóides também são voláteis, igualmente como os monoterpenos envolvidos na defesa das plantas contra pragas e doenças. Além disso, muitos compostos sesquiterpenóides atuam como fitoalexina, um antibiótico produzido pelas plantas em resposta à infecção microbiana (VIZZOTTO et al,2010).

No estudo de Potzernheim et al. (2006) o constituinte cariofileno é descrito entre o segundo e terceiro majoritário. Os autores identificaram a composição química dos óleos essenciais de 3 espécies do gênero *Piper* coletadas em Matas de Galeria no Cerrado. Observou-se que as espécies oriundas da Mata Atlântica: *Piper arboreum*, *P. dilatatum* e *P. Hispidum* apresentaram predominância de sesquiterpenos.

Alguns estudos realizados tem comprovado a bioatividade desses constituintes isolados, revelando uma ampla ação na potencialidade farmacológica. No estudo de Ahmed e colaboradores, o β -bisaboleno, isolado do óleo essencial da espécie *Opoponax (commiphora guidotti)*, foi capaz de eliminar seletivamente células de câncer de mama. Este constituinte também foi efetivo na redução do crescimento de tumores mamários 4t1 transplantados *in vivo* (redução de 37,5% no volume até o ponto final (AHMED et al, 2015, p.418).

Corroborando com o estudo de Ahmed, Lima et al. (2003), afirma ser relevante considerar a variação da substância terpenóica contidas nas plantas, uma vez que as plantas são caracterizadas pelos seus princípios ativos, e ao se tratar da segurança na saúde humana, essa variação precisa ser pequena para que o medicamento seja seguro e eficaz (LIMA et al, 2003).

Além disso, a ação dos constituintes principais demonstrado na presente pesquisa, foi destacado por Maciel et al. (2001), que investigou a bioatividade isoladas desses compostos químicos do extrato de *Copaifera (leguminosae-caesalpinoideae)* e *Croton*

Cajucara Benth (*euphorbiaceae*). Os constituintes β -bisaboleno, ar-curcumeno apresentam atividades antiulcerogênica, e antiviral. Cabe destacar que β -bisaboleno encontrado na Camomila (*matricaria chamomilla*) também é conhecido por possuir propriedades antiinflamatória e analgésica. O cariofileno, por sua vez, tem ação anticarcinogênica, antiedêmica, fagorrepelente, antiinflamatório, antitumoral, e inseticida. O cadineno e cariofileno são agentes anticarcinogênicos, cadineno também possui agente bactericida (MACIEL et al., 2001, p.429).

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, nota-se que o sesquiterpenos são os principais constituintes químicos, seguido do monoterpenos. Mesmo que em menor quantidade, apenas para duas amostras de óleo volátil da geoprópolis mostrou presença de monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos oxigenados.

Cabe ressaltar, que não foram encontrados resultados de estudos anteriores de óleo essencial de geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* e própolis da espécie *Tetragonisca angustula* que evidenciasse os sesquiterpenos hidrocarbonetos como principal composto químico.

Estudos anteriores evidenciaram os hidrocarbonetos como principal composto químico das salivas céfálicas e superfície cuticular da espécie *Melipona quadrifasciata*. POIANI (2012), analisou a composição das glândulas salivares cefálicas e perfil da superfície cuticular de algumas abelhas operárias, entre elas da espécie *Melipona quadrifasciata*. A análise ocorreu através de cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massas, bem como testes citoquímicos para detectar compostos lipídicos e atividade da enzima fosfatase nas glândulas das abelhas operárias. Os resultados revelaram que os hidrocarbonetos são os principais grupos presentes nas glândulas e superfície cuticular.

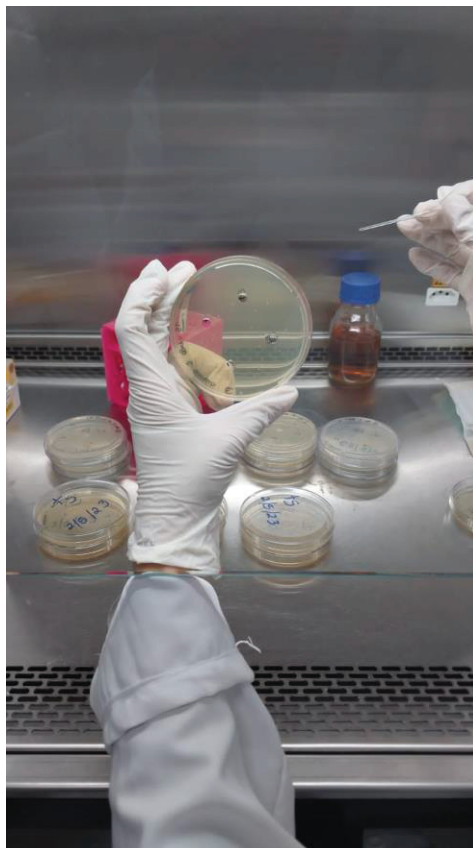
Dessa forma o estudo confirmou a hipótese de participação da glândula na constituição do perfil cuticular. Dentre os 35 compostos glandulares encontrados, 29 são hidrocarbonetos, 02 são ácidos, 01 éster e 03 não foram identificados. No perfil químico cuticular dos 35 compostos encontrados, 29 são hidrocarbonetos, 02 são ácidos, 01 éster e 03 não foram identificados. Para além disso, o trabalho evidenciou diferenças químicas de secreção glandulares conforme a fase da vida e função exercida pela operária na colônia (POIANI, 2012, p.56 -70).

17. RESULTADOS E DISCUSSÕES DA AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS VOLÁTEIS DA PRÓPOLIS NO LITORAL PARANAENSE.

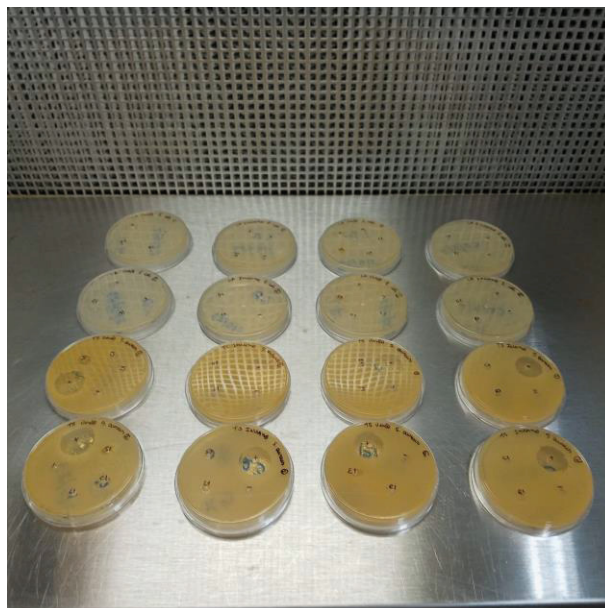
Os microorganismos como as bactérias causadoras de doenças denominadas patogênicas detêm a estrutura de parede celular rígida e é formada por um complexo mucopéptido, que dá a forma à bactéria. As bactérias são formada por polissacarídeos e tem uma consistência de um muco, não possui núcleo celular para encapsular o material genético. Assim a barreira de proteção, a membrana plasmática, é feita de lipídeos, proteínas e fósforo, e são rompidas pelos óleos essenciais.

Os óleos essenciais são lipofílicos ou seja tem afinidade por gordura, contém entre 300 a 400 moléculas aromáticas, o agrupamento dessas moléculas como fenóis, terpenos, óxido, e aldeído, interagem de diferentes formas com cada microorganismo impedindo a reprodução de bactérias patogênicas e por muitas vezes destruindo seu DNA dificultando assim a ação dos microorganismos (CONAROMA DROPS, 2022).

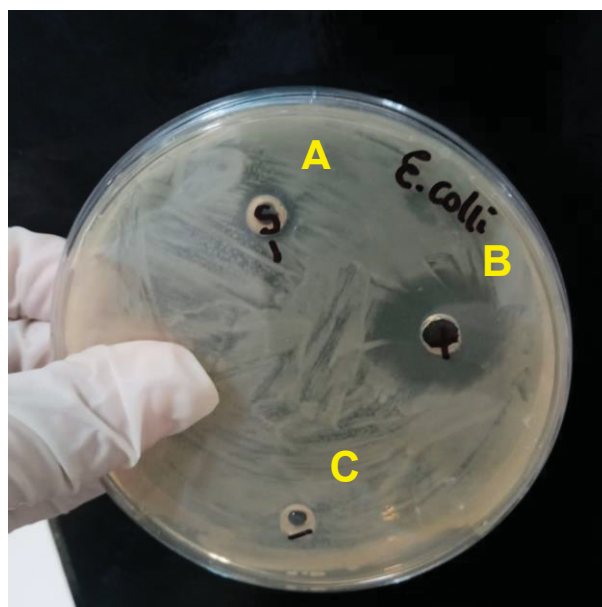
FIGURA 69– PERFURAÇÃO DE POÇOS DE 6mm PARA ENSAIOS ANTIMICROBIANOS



Fonte: a autora (2022).

FIGURA 70 – PLACAS DOS ENSAIOS ANTIMICROBIANOS

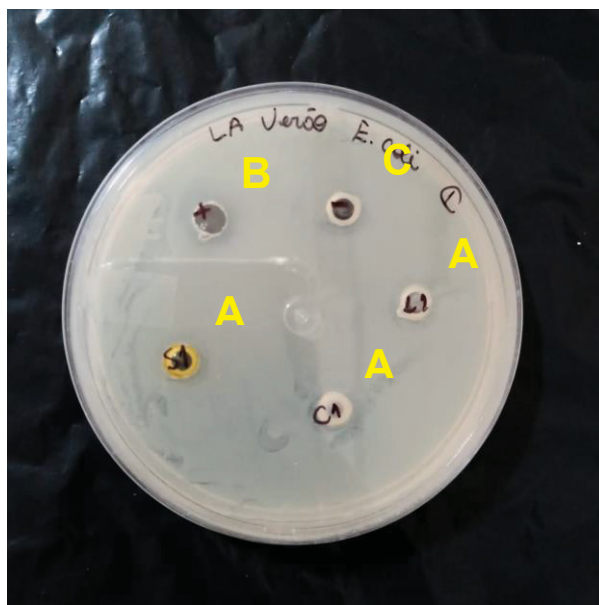
Fonte: a autora (2022).

FIGURA 71 - PERÍODO OUTONO/INVERNO HALO DA ZONA DE INIBIÇÃO ANTIBACTERIANO *E.coli* 25923 - ESPÉCIE *Mandaçaiá quadrifasciata* – Paranaguá-PR.

Legenda: A (Óleo volátil) B (Tetraciclina) C (óleo mineral)

Fonte: a autora (2023).

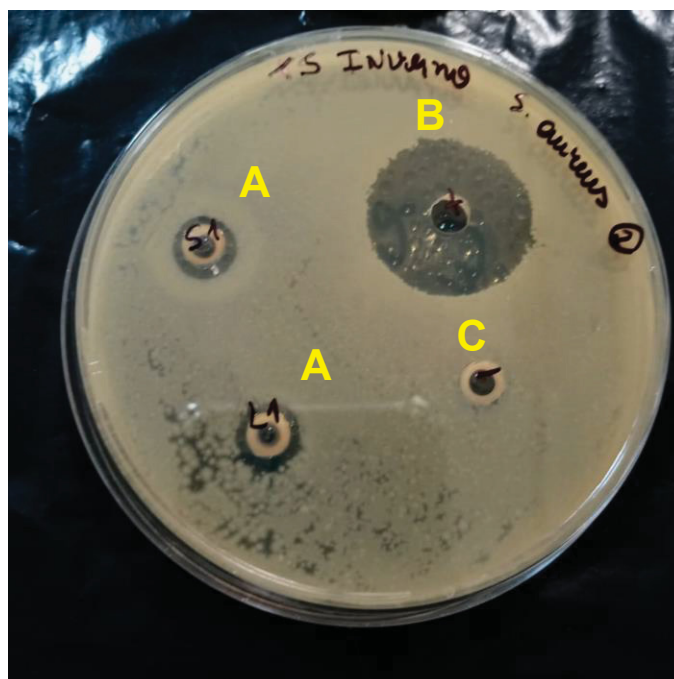
FIGURA 72- PERÍODO VERÃO HALO DA ZONA DE INIBIÇÃO ANTIBACTERIANO *E.coli* 25923 - ESPÉCIE *Mandaçaia quadrifasciata* – Guaratuba-PR e Paranaguá-PR,



Legenda: A (Óleo volátil) B (Tetraciclina) C (óleo mineral)

Fonte: a autora (2023).

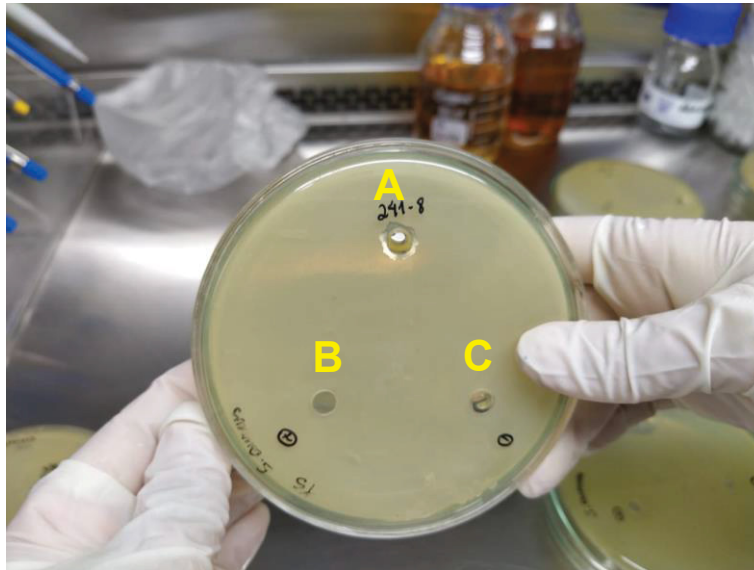
FIGURA 73 – PERÍODO OUTONO/INVERNO HALO DA ZONA DE INIBIÇÃO ANTIBACTERIANO *S.Aureus* 25923 ESPÉCIE *Mandaçaia quadrifasciata* – Paranaguá-PR.



Legenda: A (Óleo volátil) B (Tetraciclina) C (óleo mineral)

Fonte: a autora (2023).

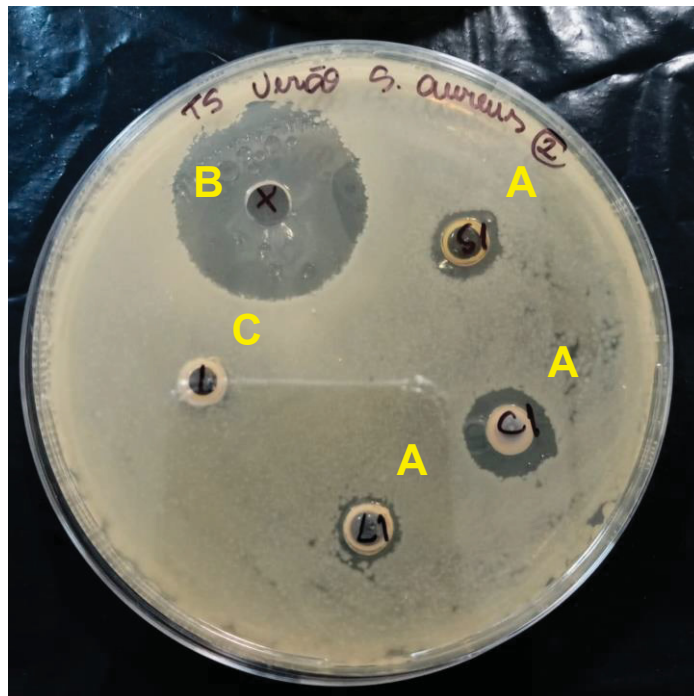
FIGURA 74 - PERÍODO OUTONO/INVERNO HALO 1 DA ZONA DE INIBIÇÃO ANTIBACTERIANO *S.Aureus* 25923 ESPÉCIE *Tetragonisca angustula* Guaratuba-PR.



Legenda: A (Óleo volátil) B (Tetraciclina) C (òleo mineral)

Fonte: a autora (2022).

FIGURA 75 – PERÍODO VERÃO HALO DA ZONA DE INIBIÇÃO ANTIBACTERIANO *S.Aureus* 25923 ESPÉCIE *Mandaçaia quadrifasciata* – Guaratuba-PR e Paranaguá-PR.



Legenda: A (Óleo volátil) B (Tetraciclina) C (òleo mineral)

Fonte: a autora (2023).

A atividade antimicrobiana está relacionada com a composição química contidas nas amostras de própolis. Alguns desses constituintes presentes na própolis como sequiterpenos, flavonóides entre outros, possuem ação antibiótica e atuam na defesa e proteção de vegetais.

Segundo MARCUCCI (1994), ensaios de sensibilidade à antimicrobianos das bactérias *S.aureus*, *E.coli* entre outras, mostraram-se sensíveis ao extrato de própolis, apresentando concentração inibitória mínima para a bactéria gram-positiva *S. aureus*, e inibição total para a bactéria gram-negativa *E.coli*, inibindo o crescimento bacteriano.

O autor relata ainda, que a atividade antibacteriana da própolis é devida a presença de flavonóides, ácidos aromáticos e ésteres presentes na resina das plantas. Os ácidos ferúlico e caféico também contribuem para a ação bactericida da própolis (MARCUCI,1994).

Nesta pesquisa, observou-se que uma ação antimicrobiana na inibição das bactérias *S.aureus* 25923 e *E.coli* NCM 3722 foi mais eficaz das amostras dos óleos voláteis de geoprópolis e própolis do período do inverno, formando halos entre 7 e 8 milímetros. O clima do Litoral Paranaense nessa estação é extremamente úmido. Diante disso, este estudo sugere que a maior concentração dos constituintes químicos majoritários neste período contribui de forma a aumentar a ação antibacteriana e antifúngica para evitar doenças nas caixas das abelhas. No município de Guaratuba PR, a amostra de óleo volátil da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* não apresentou halo de inibição contra a bactéria *E.coli* NCM 3722. Por sua vez, a amostra de óleo volátil da espécie *Tetragonisca angustula* do mesmo município apresentou halo de 7mm para a mesma bactéria. Contudo, o controle positivo de tetraciclina não apresentou halo. Estes resultados podem ser observados nas (TABELAS 12 A 15)

TABELA 12. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À *S. AUREUS* e *E.coli* COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*.

INVERNO BACTÉRIA *E.coli*

PARANAGUÁ PR

Amostra	Placa	Halo-mm	ATC
240-10	1	7	13

	2	8	14
244-10	1	8	13
	2	8	14
245-10	1	0	11
	2	0	12
MÉDIA		5,17	12,8
DESVPAD.A		5,17	1,17
VARIANCIA		16,2	1,37

Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

TABELA 13. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À *E. coli* COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*.

GUARATUBA			
Amostra	Placa	Halo-mm	ATC
241-10	1	0	11
	2	0	12
MÉDIA		0	11,5
DESVPAD.A		0	0,71
VARIANCIA		0	0,50

Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

TABELA 14. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À *S. aureus* COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*.

INVERNO BACTÉRIA *S.aureus*

PARANAGUÁ PR

Amostra	Placa	Halo-mm	ATC
240-10	1	7	22

	2	7	22
245-10	1	7	23
	2	7	23
MÉDIA		7	22,5
DESVPAD.A		0	0,58
VARIANCIA		0	0,33

Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

TABELA 15. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À *S. aureus* COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*.

GUARATUBA			
Amostra	Placa	Halo	ATC
241-10	1	7	0
	2	6	0
MÉDIA		6,5	0
DESVPAD.		0,707107	0,00
VARIÂNCIA		0,5	0,00

Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

Com relação as análise antimicrobiana feita no período de verão, este estudo não evidenciou que a ação antimicrobiana das amostras dos óleos volateis de geoprópolis , dos municípios Guaratuba PR, Morretes PR e Paranágua PR, não se mostrou eficaz na inibição da bactéria *E.coli* NCM 3722. conforme (TABELA 16 A 18).

TABELA 16. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À *E. coli* COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*.

VERÃO BACTÉRIA *E.coli*

PARANAGUÁ PR

Amostra	Placa	Halo-mm	ATC
240-10	1	0	13
	2	0	12

244-10	1	0	16
	2	0	15
245-10	1	0	16
	2	0	15
MÉDIA		0	14,5
DESVPAD.A		0	1,64
VARIANCIA		0	2,7

Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

TABELA 17. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À *E.coli* COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*.

MORRETES PR			
Amostra	Placa	Halo-mm	ATC
242-10	1	0	16
	2	0	15
MÉDIA		0	15,5
DESVPAD.A		0	0,71
VARIANCIA		0	0,5

Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

TABELA 18. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À *E.coli* COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*.

GUARATUBA			
Amostra	Placa	Halo-mm	ATC
241-10	1	0	13
	2	0	12
MÉDIA		0	12,5
DESVPAD.A		0	0,71

VARIANCIA **0** **0,50**
 Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

Ao contrário das análises antimicrobianas com a cepa *E. coli* NCM 3722 feitas no mesmo período de verão, a ação antimicrobiana das amostras dos óleos voláteis de geoprópolis, dos municípios Paranágua PR, Morretes PR e Guaratuba PR, se mostrou eficaz na inibição da bactéria *S. Aureus* 25923, conforme (TABELA 19 A 21).

TABELA 19. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À *S. aureus* COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*.

VERÃO BACTÉRIA *S. aureus*

PARANAGUÁ PR

Amostra	Placa	Halo-mm	ATC
240-10	1	10	24
	2	10	26
245-10	1	0	25
	2	0	24
MÉDIA		5	24,75
DESVPAD.A		5,77	0,96
VARIANCIA		33,3	0,92

Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

TABELA 20. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À *S. aureus* COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*.

MORRETES PR

Amostra	Placa	Halo-mm	ATC
242-10	1	8	25
	2	7	24
MÉDIA		7,5	24,5
DESVPAD.A		0,71	0,71
VARIANCIA		0,50	0,5

Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

TABELA 21. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE À *S. aureus* COM O ÓLEO VOLÁTIL DA ESPÉCIE DE ABELHA *Mandaçaia quadrifasciata*.

GUARATUBA

Amostra	Placa	Halo-mm	ATC
241-10	1	8	24
	2	9	26
MÉDIA		8,5	25
DESVPAD.A		0,71	1,41
VARIANCIA		0,50	2

Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

GUARATUBA

Amostra	Placa	Halo-mm	ATC
241-8	1	8	24
	2	9	26
MÉDIA		8,5	25
DESVPAD.A		0,71	1,41

VARIANCIA**0,50****2**

Legenda: Amostra (ponto de coleta) Halo-mm (Halo de inibição em milímetros) ATC (antibiótico tetraciclina)

Fonte: a autora (2023).

Ao longo dos anos as cepas de *S.aureus* vem criando resistência a antibióticos descobertos como Penicilina descoberta em 1932, Meticilina descoberta em 1970, Vancomicina descoberta em 1956 mas deixada de lado pelo sucesso da Meticilina, assim que a cepa se mostrou resistente a Meticilina à Vancomicina foi revista como tratamento, até que em 1977 uma nova cepa gram-positiva de aureus tornou a resisti-la (SANTOS et. al, 2007, p.6).

Segundo SANTOS (2009), a resistência da bactéria *S.aureus* acontece devido a espessura de sua parede celular, pois contém polissacarídeos e proteínas antigênicas, assim como outras macromoléculas (SANTOS et. al, 2009, p. 42). De acordo com os resultados obtidos das análises antimicrobianas , evidencia-se os óleos voláteis de geoprópolis e própolis potencializadores de desenvolvimento de novos farmacos. Segundo NOGUEIRA et al. (2007), essa ação antibacteriana é devido a diversidade de metabólitos secundários da própolis associadas com as regiões e as estações em que foram produzidas.

A composição química bioativa do óleo essencial da geoprópolis e do óleo essencial de própolis depende de fatores abióticos e bióticos, que também afetam o efeito antibacteriano, bem como rendimento do óleo essencial da geoprópolis e própolis, motivo pelo qual no período de verão esses óleos essenciais não apresentaram um halo de inibição para a cepa *E.coli* NCM 3722.

De acordo com Lima, Kaplan e Cruz (2003), há influência dos fatores ambientais na composição de terpenóides em algumas plantas. As autoras citam que pequenas variações diárias de temperaturas estimulam a produção de terpenóides. Ademais está claro que o aumento dos níveis de nitrogênio e fósforo no solo contribui para a transferência de terpenos em óleos essenciais, embora em valores extremos ocorra uma diminuição (LIMA et al, 2003, p.71-77). Esses fatores de influência de terpenos em plantas, está diretamente ligado ao rendimento e composição do óleo essencial da geoprópolis e própolis, visto que as abelhas retiram o material resinoso das plantas para formularem o geoprópolis e própolis.

18. RESULTADO DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA À ANTIBIÓTICOS

A figura 76 mostra os resultados da atividade moduladora do PMq e EOPMq combinado com gentamicina frente as linhagens bacterianas de *S. aureus* e *E. coli*. Quando comparamos a CIM da gentamicina isolada e a CIM da combinação gentamicina+PMq e/ou gentamicina+EOPMq, observamos que ao realizar as combinações, a CIM da gentamicina apresentou redução de valor variando de 60,0% a 92,1% frente as linhagens bacterianas testadas, onde tanto o PMq quanto EOPMq potencializou o efeito do antibiótico.

FIGURA 76- ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA À ANTIBIÓTICOS

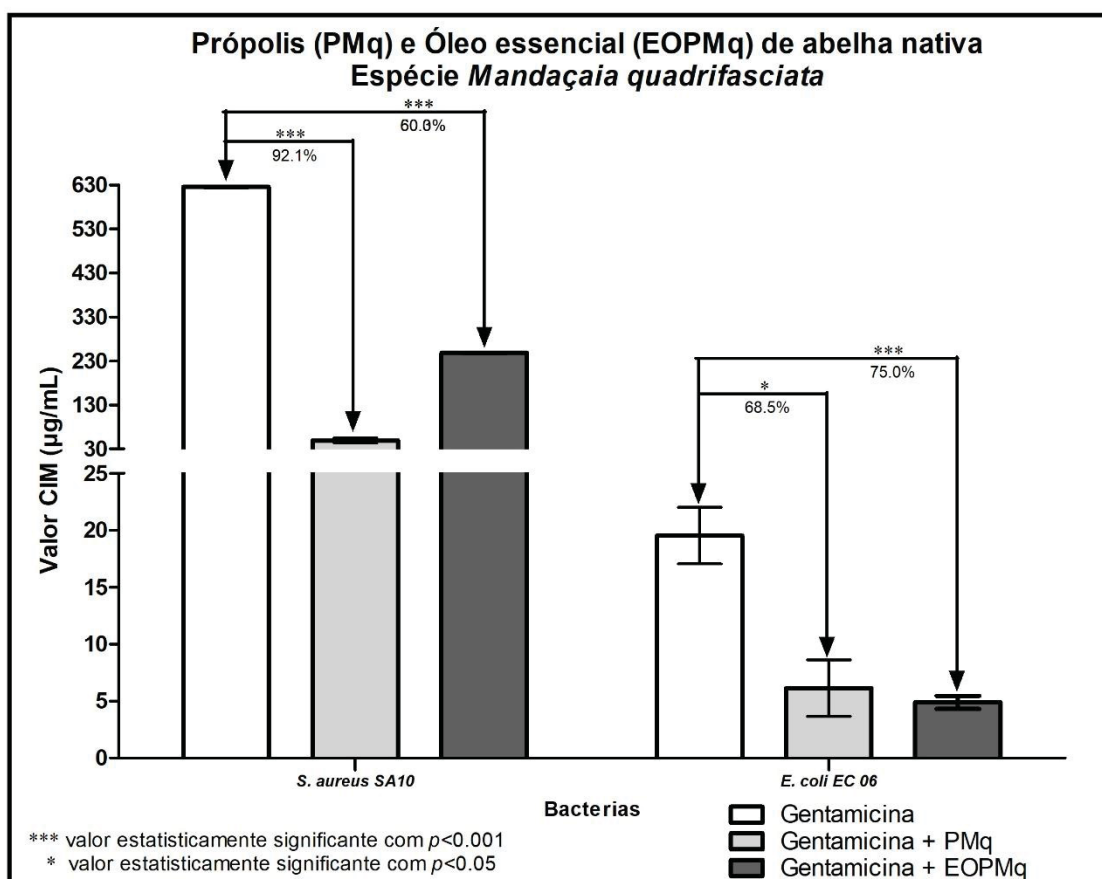


Figura 76 – Avaliação da atividade moduladora da combinação do Própolis (PMq) e do óleo essencial (EOPMq) de abelha nativa da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* com Gentamicina contra cepas bacterianas Gram positivas e Gram negativas.

A figura 76 mostra os resultados da atividade moduladora do PMq e EOPMq combinado com canamicina frente as linhagens bacterianas de *S. aureus* e *E. coli*. Quando comparamos a CIM da canamicina isolada e a CIM da combinação canamicina+PMq e/ou canamicina+EOPMq, observamos que a combinação canamicina+PMq apresentou o mesmo valor para CIM da canamicina isolada frente a *S. aureus*, indicando indiferença. Ao analisar as demais combinações, a CIM da canamicina apresentou redução de valor variando de 50,0% a 75,0% frente as linhagens bacterianas testadas, onde tanto o PMq quanto EOPMq potencializou o efeito do antibiótico.

FIGURA 77- ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA À ANTIBIÓTICOS

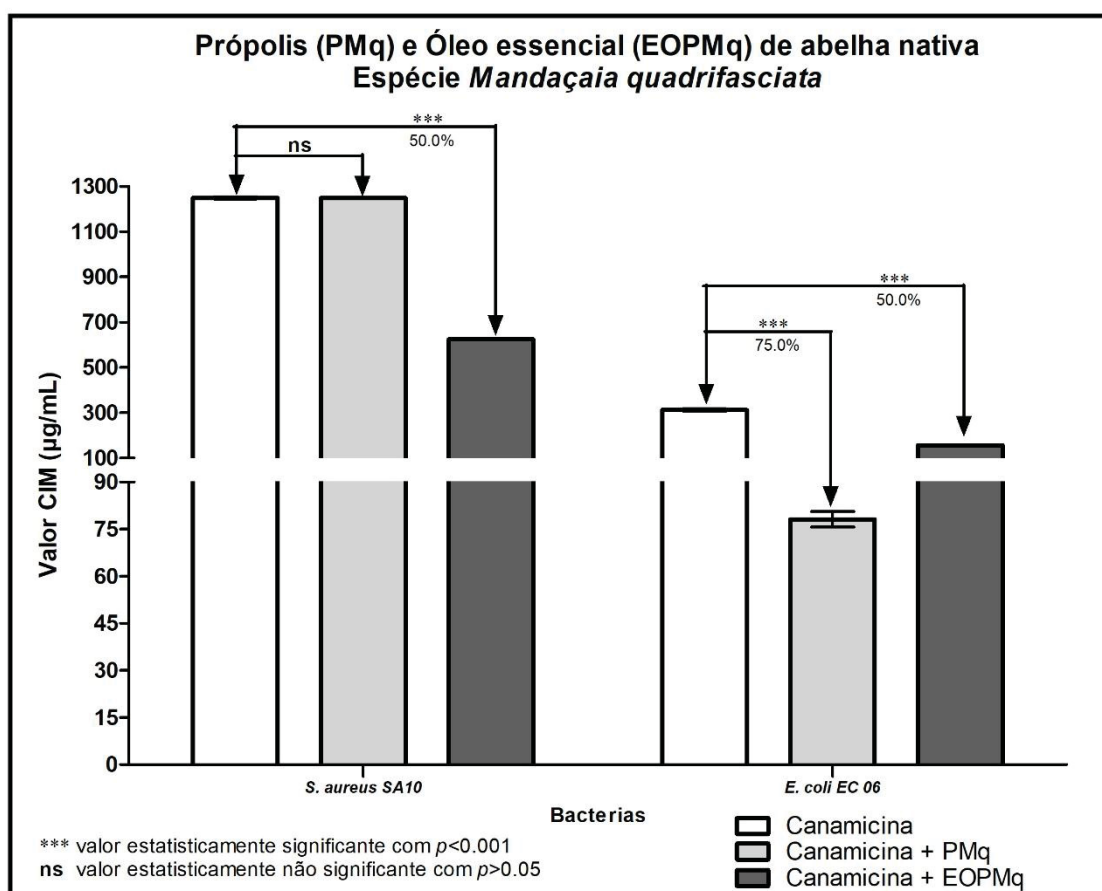


Figura 77 – Avaliação da atividade moduladora da combinação do Própolis (PMq) e do óleo essencial (EOPMq) de abelha nativa da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* com Canamicina contra cepas bacterianas Gram positivas e Gram negativas.

A figura 77 mostra os resultados da atividade moduladora do PMq e EOPMq combinado com neomicina frente as linhagens bacterianas de *S. aureus* e *E. coli*. Quando comparamos a CIM da neomicina isolada e a CIM da combinação neomicina+PMq e/ou neomicina+EOPMq, observamos que ao realizar as combinações, a CIM da gentamicina apresentou redução de valor variando de 50,0% a 93,8% frente as linhagens bacterianas testadas, onde tanto o PMq quanto EOPMq potencializou o efeito do antibiótico.

FIGURA 78- ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA À ANTIBIÓTICOS

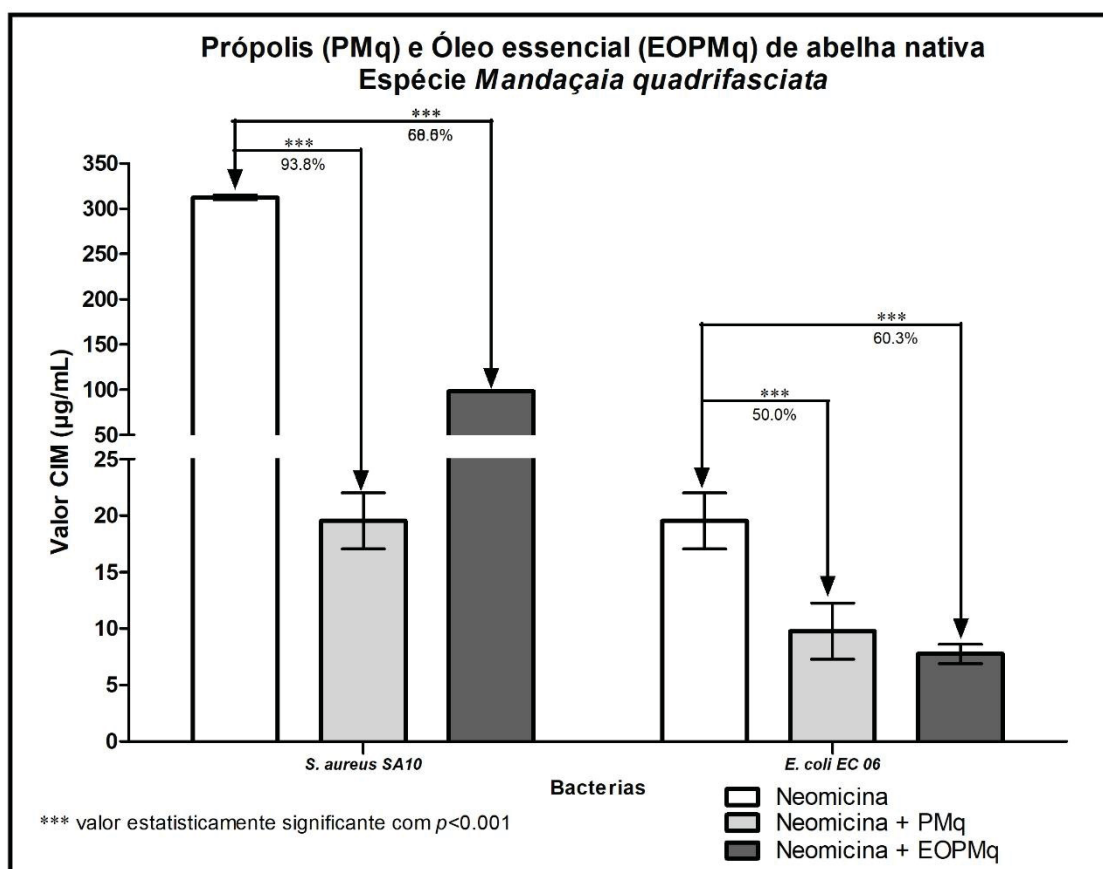


Figura 78– Avaliação da atividade moduladora da combinação do Própolis (PMq) e do óleo essencial (EOPMq) de abelha nativa da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* com Neomicina contra cepas bacterianas Gram positivas e Gram negativas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa através dos resultados das análises de rendimento do óleo volátil de geoprópolis e própolis, composição química e atividade antimicrobiana, pretende evidenciar o potencial dos subprodutos das espécies das abelhas estudadas, afim de fortalecer estudos de etnoprospecção para que cada vez mais seja possível a identificação de propriedades e princípios ativos de recursos biológicos através do conhecimento tradicional, gerando conhecimento científico e contribuindo para a conservação da diversidade biológica local.

Esta pesquisa identificou que os principais constituintes químicos nas amostras foram o β -Bisaboleno como principal constituinte, seguido de *(E)-Cariofileno ar-Curcumeno*, *α -Copaeno* e *α -Pineno*. Esses constituintes são metabólicos secundários também encontrados em óleos essenciais extraídos de plantas. Todos compõem a classe dos sesquiterpenos hidrocarbonetos, exceto α -Pineno que constitui a classe dos monoterpenos hidrocarbonetos. Não foram encontrados estudos anteriores similares a esta pesquisa que evidenciasse os sesquiterpenos hidrocarbonetos como principal composto químico. Dessa forma o presente estudo, sugere-se o isolamento dos constituintes químicos majoritários para futuras análises de bioatividade.

A atividade antibacteriana do óleo essencial resultou de maneira geral em halos de inibição considerados sensíveis. Cabe destacar que investigações à cerca da composição química para elaboração e uma relação estrutura química versus atividade precisa ser melhor explorada. Porém, sabe-se que a ação dos terpenóides frente à membrana bacteriana, sugerem que tal atividade se dá pelo fato de que a membrana possui propriedades lipofílicas, portanto o local de ação dos óleos essenciais está relacionado com a bicamada fosfolipídica, encontrada em algumas bactérias, como as gram-negativas.

Nos resultados de policromia, o presente estudo foi o primeiro a evidenciar a tonalidade azulada no extrato da própolis da espécie *Tetragonisca angustula*, pois conforme relatado pelos Meliponicultores das regiões estudadas observa-se a tonalidade azulada dos extratos somente para geoprópolis da espécie *Mandaçaia quadrifasciata*, o estudo igualmente revelou a seletividade de abelhas da mesma espécie na coleta de resinas, mostrados nos resultados de características físicas das amostras em natura e distintas tonalidades dos extratos etanólicos.

Outro ponto importante a ser observado, é o fato de que, para se conhecer o modo

de ação dos óleos, será necessário examinar separadamente cada componente do óleo essencial, e as suas combinações para averiguar se eles têm ação bactericida sozinhos ou sincronizados, pois muitos componentes dos óleos essenciais possuem diferentes habilidades específicas para romper ou penetrar na estrutura bacteriana.

Por outro lado, os resultados da avaliação da atividade moduladora da combinação do Própolis (PMq) e do óleo essencial (EOPMq) de abelha nativa da espécie *Mandaçaia quadrifasciata* com gentamicina, neomicina e canamicina contra cepas bacterianas Gram positivas e Gram negativas revelaram o potencial tanto do óleo como do extrato da própolis como potencializadores de atividade antibiótica.

Pode-se inferir, a partir dos resultados alcançados, que este estudo possibilitou o conhecimento dos potenciais químicos e biológicos das espécies estudadas através dos ensaios realizados, todavia futuras pesquisas poderão ser realizadas para avaliar os diferentes aspectos em relação ao teor e composição química dos óleos essenciais.

Far-se-á ainda a avaliação da variação sazonal no teor e composição do óleo essencial da própolis das abelhas em questão, a fim de investigar a variabilidade da composição química do óleo essencial em diferentes estações do ano.

Após a publicação do presente estudo, ocorrerá mais uma visita técnica aos meliponicultores, a fim de expor os resultados das análises.

O estudo ainda formulou o encapsulamento do óleo volátil da espécie *Tetragonisca angustula* e hidrogel do hidrolato obtidos da extração por hidrodestilação do óleo volátil da espécie *Mandaçaia quadrifasciata*, como perspectiva de novos ensaios dermocosméticos, bem como potencial cicatrizante.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Chromatography, Mass Spectroscopy. 4th. Ed. Carol Stream: Allured, 2007.

AHMED, Y, K, I, S; Et. al. β -bisaboleno um Sesquiterpeno do Extrato do Óleo Essencial de Opoponax (*Commiphora Guidotti*), Exibe Citotoxicidade em Linhas de Celulares de Câncer de Mama. **Phytotherapy Research**, v.3, n.30, p.418-425, Mar.2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.5543>. Acesso em: 10 Out. 2023. <https://doi.org/10.1002/ptr.5543>.

ALVES; FELISBINO; SULZBACH. O Trabalho Informal nos Municípios do Litoral Paranaense. Ciências Aplicadas-Economia-Economia dos Recursos Humanos. Disponível em: <http://www.sbpnet.org.br/livro/63ra/resumos/resumos/3606.htm/>. Acesso em 30 out.2019.

BARREIRAS, Diego, et al. **Eficácia da ação antimicrobiana do extrato de própolis de abelha jataí (*Tetragonisca angustula*) em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas**, 2020. Caderno De Ciências Agrárias n Rio de Janeiro. vol. 12, p. 01–05, 2020.

BELI, M, Carolina; MAGESTE, M, Jessica; TAKETANI, F, Natalia. Bioprospecção de Enzimas para Cosmética: Seu Impacto na Biotecnologia. **Revista Liberato**, v. 10, p. 123–137, 2009.

BUENO, Jésus Franco. **Sistema automatizado de classificação de abelhas baseado em reconhecimento de padrões**. 2010. Tese (Doutorado em Sistemas Digitais) - Escola Politécnica, University of São Paulo, São Paulo, 2010. doi:10.11606/T.3.2010.tde-10012011-114124. Acesso em: 2023-08-02.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Decreto nº 9.918/2019, de 15 de outubro de 2021**. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis, conforme consta dos Anexos desta Instrução Normativa. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-regulamenta-concessao-do-selo-arte-para-produtos-de-abelhas-e-seus-derivados>. Acesso em: 20 out. 2021.

CASTRO, I. **Obtenção Artificial de Rainhas e Estabelecimento de Novas Colônias de *Tetragona clavipes***. 2012. 100 f. Dissertação (Mestre em Ciências) –Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, Ribeirão Preto (SP), 2012. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59131/tde-07082012-135102/publico/Ivan_de_Castro_2012.pdf. Acesso em : 12 Set. 2023.

CASTRO, M.L.; CURY, J.; ROSALEN, P.L. **Própolis Do Sudeste E Nordeste Do Brasil: Influência Da Sazonalidade Na Atividade Antibacteriana E Composição Fenólica**. Química Nova. v.30, n.7, p.1512-1516, 2007.

CHENG, P. C.; WONG, G. Honey bee própolis: prospects in medicine. Bee world, v. 77, n. 1, p. 8–15, 1996.

CONAROMA Drops – “Semana de Estudos dos Óleos Essenciais”. Disponível em : <https://conaroma.com.br/cronograma-drops/>. Acessado 17 de fevereiro de 2023.

DEAN, W. **Aferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira**. Companhia das Letras, São Paulo. 1996.

CORDEIRO, C.C.K.H; MENEZES, C. Análise da Capacidade Produtiva de Própolis Em Diferentes Espécies de Abelhas Sem Ferrão. **Xxiv Congresso Brasileiro de Zootecnia**, Vitória ES, 12 mai, 2014. *Zootec.Org* p.1-3.

DENARDIN, V. F.; ALVES, A. R. **Desenvolvimento territorial: Olhares contemporâneos**. Londrina: Ed. Mecenas, 2019. Disponível em: http://www.ppgdts.ufpr.br/?page_id=841/. Acesso em: 15 mai. 2021.

DODE, A. **Mortalidade por Neoplasias e a Telefonia Celulares no Município de Belo Horizonte Minas Gerais**. 266 f. 2010. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

DONATO, Micheline, Et al. **BIOPROSPECÇÃO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DE PRODUTOS NATURAIS E DERIVADOS DE PLANTAS E ANIMAIS**- João Pessoa: Editora UFPB, 2020.

GIRARD, E. A.; KOEHLER, H. S; NETTO, S.P. Volume, biomassa e rendimento de óleos essenciais do craveiro (*pimenta pseudocaryophyllus* (gomes) landrum). **Rev. Acad.**, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 147-165, abr./jun. 2007.

FELIPE, O.L; BICASL.J. Terpenos, Aromas e a Química dos Compostos Naturais. **Revista Química e Sociedade**, v. 39, n. 2, p. 120-130, MAIO. 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Lorena-Felipe/publication/317254272_Terpenos_aromas_e_a_quimica_dos_compostos_naturais/links/5b5d3a1c0f7e9bc79a6c5018/Terpenos-aromas-e-a-quimica-dos-compostos-naturais.pdf. Acesso em: 20 nov.2023. <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160068>

FELIZARDO, Maria, Et al. **Chemical profile, stability and fungicide activity of oil-in-water nanoemulsion (O / A) incorporated with *Ba-har* essential oil**, 2019. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaenatura/article/view/63881/html>. Acesso em 4.ago 2022.

FERREIRA, A.S.D. **Avaliação do Efeito Protetor do Beta-Cariofileno em Modelos Celulares de Doenças Neurodegenerativas**, 2014. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60134/tde-17042015093013/publico/Tese_original_Completa.pdf. Acesso em 01 Nov. 2019.

FRAVE, D. **Mobile phone-induced honeybee worker piping**. **Apidologie**, v. 42, n.3, p. 270–279, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/225679194_Mobile_phone-induced_honeybee_worker_piping/link/5b8f82f4a6fdcc1ddd0fedd9/download/. Acesso em: 10 mar.2019.

FREIRE, U. C. **Origem da Própolis Verde e Preta Produzida em Minas Gerais**. 2000. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal Viçosa, (MG), 2000. Disponível em: https://repositorio.ufersa.edu.br/bitstream/tede/705/1/UlyssesMM_DISSERT.pdf. Acesso em 10 Jul. 2023.

FREITAS, B. M. & SILVA, C. I. Agricultura e Polinizadores. Organizador: Associação Brasileira de Estudos das Abelhas - A.B.E.L.H.A. Universidade Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia Universidade Federal do Ceará. p.13-15, 2015.

GHEDIRA;GOETZ;LE JEUNE. **Laboratoire de pharmacognosie, faculté de pharmacie de Monastir**, Tunisie 2 Dumenat de phytothérapie Paris-XIII, 74, rue Marcel-Cachin, Bobigny cedex, France.

GHISALBERTI, E.L. **Própolis: A Review**. Bee World 60, 59–84, 1979.

GUIMARÃES, Mauro Por Uma Educação Ambiental Crítica Na Sociedade Atual .Revista margem Interdisciplinar . 2013.

HB JUNIOR. **Abelhas sem Ferrão, descrição das espécies, plantas visitadas**. [s.d.] Disponível em: <<https://hbjunior19.wordpress.com/2014/08/22/abelhas-sem-ferrao-descricao-das-especies-stingless-bees-description-of-species/>>. Acesso em 22 out. 2019.

JAVADPOUR, M. M.; JUBAN, M. M.; LO, W. C. J.; BISHOP, S. M.; ALBERTY, J. B.; COWELL, S. M.; BECKER, C. L.; MCLAUGHLIN, M. L. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. Journal of medicinal chemistry, v. 39, n. 16, p. 3107-3113, 1996. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute - Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi: Approved Standard: M27-A2. 2002. ISBN 1562386689.

LABIAK, A.; AGOSTINHO, A. J. Sistema regional de inovação do Paraná. Siri 2020 do conceito a aplicação, Litoral/PR. **1ª Edição Sebrae / Funespar**, Curitiba, v.2, n.1, p.17-181, 2020.

LIMA, R.P.H.; KAPLAN, C.S.M.; CRUZ, M.V.A. Influenciados Fatores abióticos na produção e Variabilidade de Terpenóides em plantas. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 10, n.2, p.71 - 77, ago./dez. 2003.

KÖNIG, B. Fontes vegetais de própolis, **Bee World**, Monmouthshir/País de Gales, v.66, p.136-139, abr.201. Disponível em : <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0005772X.1985.11098844>. Acesso em 10.Fev.2023. doi:10.1080/0005772X.1985.11098844.

MACIEL, A.M.M.; PINTO, C.A.; VEIGA, F.JR.V. **Plantas Mediciniais: A Necessidade de Estudos Multidisciplinares**. Revista Química Nova Quim. Nova, Rio de Janeiro, v.25, n. 3, p.429-438, nov. 2002.

MAGALHÃES L. Tatiana; VENTURIERI, C. Giorgio. **Aspectos Econômicos da Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão (Apidae: Meliponini) no Nordeste Paraense**, 2010. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/883922/1/Doc364.pdf> f//. Acesso em 20 out. 2019.

MARCUCCI, M.C. **Própolis: Chemical Composition Biological Properties And Therapeutic**. Apidologie, v.26, p.1-17, 1995.

MATIAS, E. F. F.; ALVES, E. F.; SANTOS, B. S.; SOBRAL DE SOUZA, C. E.; DE ALENCAR FERREIRA, J. V.; SANTOS DE LAVOR, A. K.; FIGUEREDO, F. G.; FERREIRA DE LIMA, L.; VIEIRA DOS SANTOS, F. A.; NEVES PEIXOTO, F. S.; VIANA COLARES, A.; AUGUSTI BOLIGON, A.; SARAIVA RDE, A.; ATHAYDE, M. L.; DA ROCHA, J. B.; ALENCAR MENEZES, I. R.; DOUGLAS MELO COUTINHO, H.; COSTA, J. G. M. Biological Activities and Chemical Characterization of *Cordia verbenacea* DC. as Tool to Validate the Ethnobiological Usage. **Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM**, v. 2013, n. 2013, p. 1-6, 2013.

MASCARENHAS, G. M. **A estrutura da paisagem do mosaico de unidades de conservação do litoral norte do Paraná**, 2013. 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Ciências Agrárias- Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2013. Disponível em: https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/17138/d500_0683-M.PDF?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 15 Set. 2023.

MEDEIROS, R. **Evolução das tipologias e categorias de áreas protegidas no Brasil**. *Ambiente & Sociedade*, V. IX N. 1, p. 7-17, 2006. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1414753X2006000100003&script=sci_abstract&tlng=p/. Acesso em: 15 mar.2021.

NACIB, AB'SÁBER, AZIZ NACIB. Os domínios de natureza no Brasil: Potencialidades Paisagísticas. São Paulo: Ateliê Editorial, 2003.

NCCLS. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard: document M7-A3. NCCLS, 2000. ISBN 1562382098.

NOGUEIRA-NETO, Paulo. Vida e Criação das Abelhas Indígenas sem Ferrão. São Paulo : Editora Parma Ltda, 1997.

OLIVEIRA, AP ET AL. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Brazilian Propolis Essential Oil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, v.6 n.1,p.121-130, fev 2010.

PALUMBO, Hermes Neri. Nossas Brasileirinhas: As Abelhas Nativas. Curitiba. Abril Ltda, 2015.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PINTO, L. M. R. B; FRAXE, T. J, P; SILVA, M. L. Um breve panorama da bioprospecção: sua origem, suas definições, potencial econômico e status- quo no Brasil. *Revista Terceira Margem Amazônia*, v. 6, n.15, p. 90- 102, 2020. Disponível em : <http://dx.doi.org/10.36882/2525-4812.2020v6i15p90-102/>. Acesso em: 20 dez.2021.

POIANI, S. B. **A glândula salivar cefálica e os compostos da secreção e de superfície cuticular em algumas espécies de abelhas eussociais (*Hymenoptera, Apinae*)**. 2012. 131 f. Tese Doutorado (Biologia Celular e Molecular) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2012.

PORTO-GONÇALVES, C. W. A Ecologia Política na América Latina: Reapropriação Social da Natureza e Reinvenção dos Territórios. *Revista. Internacional Interdisciplinar Interthesis*, Florianópolis, v.9, n.1, p. 1-35, Jan/Jul.2012. Disponível em: <https://periodicos.ufsc.br/index.php/interthesis/article/view/1807-1384.2012v9n1p16/>. Acesso em 05 Mai.2021.

POTZERNHEIM, C.L.M; BIZZO, R.H; VIEIRA, B.R.F. Análise dos Óleos Essenciais de Três Espécies de (*Piper*) Coletadas na Região do Distrito Federal (Cerrado) e Comparação com Óleos de Plantas Procedentes da Região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Rio de Janeiro, p. 246-251 Abr/Jun.2006.

PRATES, M.T. Sistemas Regionais de Inovação: Tecnologias Ambientais, Experiências Internacionais e o Desafio de Regiões Periféricas. **Conferência Internacional LALICS 2013**

“Sistemas Nacionais de Inovação e Políticas de CTI para um Desenvolvimento Inclusivo e Sustentável” Rio de Janeiro, 11 nov. 2013.

RATZON, R ; LANDAU, D ; SHEINER, E ; SHOHAM - VARDI. **Disparities in Antenatal Corticosteroid Treatment to Women Experiencing Threatened Preterm Delivery**. Publicado em: *International Journal of Epidemiology*, 2015, Vol.44(suppl1), pp.i46-i46.

SANTOS, ANDRÉ. **Staphylococcus aureus :Suscetibilidade a Derivados do Sistema Pirazolo-Piridina** . 2009. 119 f. Dissertação de Mestrado (Patologia Clínica e Análises Clínicas), Universidade Federal Fluminense, Niterói (RJ), 2009. Disponível em : <https://app.uff.br/riuff/bitstream/handle/1/11877/andr%c9%20luis%20dos%20santos%20disserta%c7%c3o.pdf;jsessionid=6011867289e502373fddd579348a51b5?sequence=1>. pdf, scielo. Acesso em: 10 ag. 2023.

SANTOS,P.U;CALIARI,T. Distribuição Espacial das Estruturas de Apoio às Atividades Tecnológicas no Brasil: Uma Análise Multivariada para as Cinquenta Maiores Microrregiões do País. *Economia*, Brasília(DF), v.13, n.3b, p.759–783, set/dez 2012. Disponível em: https://www.anpec.org.br/revista/vol13/vol13n3bp759_783.pdf. Acesso em : abr. 2023.

SARAIVA; FONCECA, I, VERA; CASTRO, D, P. Agricultura Brasileira é Dependente de Polinizadores Ameaçados de Extinção . **Ciências Ambientais**, São Paulo, p.1-10,2019. Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/ciencias-ambientais/agricultura-brasileira-e-dependente-de-polinizadores-ameacados-de-extincao/>. Acesso em: 04 abr.2021.

SACHS, I. **Ecodesenvolvimento: crescer sem destruir**. São Paulo: Vértice, 1986.

SADER, H. S.; BIEDENBACH, D. J.; JONES, R. N. Global patterns of susceptibility for 21 commonly utilized antimicrobial agents tested against 48,440 Enterobacteriaceae in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 47, n. 1, p. 361-364, 2003.

SATO, Y.; SHIBATA, H.; ARAI, T.; YAMAMOTO, A.; OKIMURA, Y.; ARAKAKI, N.; HIGUTI, T. Variation in synergistic activity by flavone and its related compounds on the increased susceptibility of various strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to beta-lactam antibiotics. **International journal of antimicrobial agents**, v. 24, n. 3, p. 226-33, Sep 2004.

SEN, A. **Desenvolvimento como liberdade**, 6ª Edição. São Paulo: Companhia das letras. 2007.

SILVA, A. K. O. *Revista de Geografia (UFPE)* V.29 N.1. 2012. Disponível em: https://pdfs.semanticscholar.org/c8d1/4bd61c464a9b7e4782b51467ea667e39c315.pdf?_ga=2.198505007.1298212775.1614632740-763747740.1609026291/. Acesso em: 20 mai.2021.

SILVA,Luiz ,Et al . **Conservação de Recursos Genéticos: A Pesquisa com Plantas Medicinais no Litoral do Paraná**, 2020. *Ambiente & Sociedade* n SãoPaulo. Vol. 23, 2020.

SILVA, L. E. DOTTO, A.F. REBELO, R. A. Bioprospecção e inovação na floresta atlântica: a atuação da RIBIFLORA no Litoral do Paraná e Santa Catarina. **Revista Fitos**. São Paulo, v.23, p.1-11,2022. Disponível em: <https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1241>. Acesso em: 11 set. 2022.

SOUZA, Luana Caldas **Plano Nacional Sobre Mudanças Climáticas. Departamento de Direito**. Disponível em: http://www.puc-rio.br/pibic/relatorio_resumo2009/relatorio/dir/luana.pdf/. Acesso em 10 out.2019.

SOUZA, S.A. A; CITÓ, A.G. L; LOPES, J.A.D. **Constituintes do Óleo Essencial da Própolis Produzida na Cidade de Pio IX-** Piauí, 2006. Disponível em: http://www.sbpmed.org.br/download/issn_06_3/artigo1_v8_n4.pdf/. Acesso em 01 nov. 2019.

VILLAS-BÔAS, J. Manual Tecnológico: **Mel de Abelhas sem Ferrão**. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil, 2012.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos Secundários Encontrados em Plantas e sua Importância**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/886074/1/documento316.pdf>>. Acesso em 15 set 2023.