



## **TRIAGEM MULTIVARIADA DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE GEOPRÓPOLIS REGIONAIS PARA APLICAÇÃO FUNCIONAL NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS**

### **MULTIVARIATE SCREENING OF THE ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF REGIONAL GEOPROPOLIS EXTRACTS FOR FUNCTIONAL APPLICATION IN THE FOOD INDUSTRY**

### **CRIBADO MULTIVARIADO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO Y ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE GEOPRÓPOLIS REGIONALES PARA APLICACIÓN FUNCIONAL EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS**

Apresentação: Comunicação Oral

Eduardo Joazeiro de Sousa<sup>1</sup>; André Luiz De Gino Soares<sup>2</sup>; Wilson Rodrigues Pinto Júnior<sup>3</sup>; Tayse Dantas Rebouças Santos Ribeiro<sup>4</sup>

DOI: <https://doi.org/10.31692/VIICIAGRO.0107>

#### **RESUMO**

A busca por aditivos e conservantes naturais tem impulsionado o estudo de matrizes biológicas complexas como a geoprópolis, um produto resinoso modificado por abelhas sem ferrão cuja composição química varia em resposta a fatores geográficos e sazonais. O objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio de triagem multivariada, o potencial antimicrobiano e antioxidante de extratos de geoprópolis de *Melipona scutellaris* coletados na região sul do estado da Bahia, correlacionando sua bioatividade com a localização geográfica, a época e a estação do ano da colheita. Os extratos hidroalcoólicos (10% m/v) foram obtidos utilizando dois métodos de processamento: extração a quente (65 °C por 60 minutos em banho-maria, repetido após 24 horas) e extração cinética a frio (agitação e repouso por 15 dias). A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de disco-difusão (Kirby-Bauer) em arranjo fatorial 2×5×2 frente às cepas de referência *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e *Escherichia coli* (Gram-negativa). A capacidade antioxidante foi determinada por espectrofotometria através do ensaio de sequestro do radical livre DPPH. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), teste de comparações múltiplas de Tukey e Análise de Componentes Principais (PCA). Os dois primeiros componentes da PCA explicaram 89,80% da variabilidade total dos dados (PC1=56,47% e PC2=33,33%). A PC1 refletiu a sinergia entre a capacidade antioxidante e a inibição de *S. aureus* (r=0,67), enquanto a PC2 foi dominada pela ação exclusiva contra a *E. coli*. A eficácia antimicrobiana mostrou-se estritamente seletiva em função da classe celular, com halos expressivamente superiores contra a cepa Gram-positiva (20 mm), ao passo que a membrana externa das Gram-negativas limitou a ação fitoquímica. O modelo multivariado evidenciou uma clara aptidão vinculada ao ecossistema: a capacidade de inibir a *E. coli* associou-se fortemente à Mata Atlântica de Ilhéus nas coletas de primavera, outono e verão a quente. Em contrapartida,

<sup>1</sup> Biotecnologista, Universidade Federal da Bahia - IMS - Campus Anísio Teixeira, [joazeiro.ed@gmail.com](mailto:joazeiro.ed@gmail.com)

<sup>2</sup> Doutorado do Curso de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal da Bahia - IMS - Campus Anísio Teixeira, [andredegino@gmail.com](mailto:andredegino@gmail.com)

<sup>3</sup> Docente do Curso de Biotecnologia, Universidade Federal da Bahia - IMS - Campus Anísio Teixeira, [wilson.rodrigues@ufba.br](mailto:wilson.rodrigues@ufba.br)

<sup>4</sup> Docente do Curso de Biotecnologia, Universidade Federal da Bahia - IMS - Campus Anísio Teixeira, [taysedrs@ufba.br](mailto:taysedrs@ufba.br)

o ambiente de Restinga em Sauípe direcionou seu potencial para a atividade antioxidante, alcançando o ápice na coleta de verão processada a frio (27,20%), cujas moléculas revelaram-se altamente termolábeis e sofreram degradação sob aquecimento. Conclui-se que a padronização tecnológica universal para a geoprópolis regional é inviável. Para sua aplicação segura como ingrediente funcional na indústria de alimentos, torna-se obrigatória a seleção customizada do ecótipo e da época de colheita, ajustando a extração ao alvo biológico desejado.

**Palavras-Chave:** Geoprópolis; *Melipona scutellaris*; Bioprospecção; Bioatividade.

## RESUMEN

La búsqueda de aditivos y conservantes naturales ha impulsado el estudio de matrices biológicas complejas como la geoprópolis, un producto resinoso modificado por abejas sin aguijón cuya composición química varía en respuesta a factores geográficos y estacionales. El objetivo de este trabajo fue evaluar, mediante un cribado multivariado, el potencial antimicrobiano y antioxidante de extractos de geoprópolis de *Melipona scutellaris* recolectados en la región sur del estado de Bahía, correlacionando su bioactividad con la localización geográfica, la época y la estación del año de la cosecha. Los extractos hidroalcohólicos (10% m/v) se obtuvieron mediante dos métodos de procesamiento: extracción en caliente (65 °C durante 60 minutos en baño María, repetido tras 24 horas) y extracción cinética en frío (agitación y reposo durante 15 días). La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de disco-difusión (Kirby-Bauer) en un diseño factorial 2×5×2 frente a las cepas de referencia *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) y *Escherichia coli* (Gram-negativa). La capacidad antioxidante se determinó por espectrofotometría mediante el ensayo de captura del radical libre DPPH. Los datos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA), prueba de comparaciones múltiples de Tukey y Análisis de Componentes Principales (PCA). Los dos primeros componentes del PCA explicaron el 89,80% de la variabilidad total de los datos (PC1=56,47% y PC2=33,33%). El PC1 reflejó la sinergia entre la capacidad antioxidante y la inhibición de *S. aureus* ( $r=0,67$ ), mientras que el PC2 estuvo dominado por la acción exclusiva contra *E. coli*. La eficacia antimicrobiana resultó ser estrictamente selectiva en función de la clase celular, con halos notablemente superiores contra la cepa Gram-positiva (20 mm), mientras que la membrana externa de las Gram-negativas limitó la acción fitoquímica. El modelo multivariado evidenció una clara aptitud vinculada al ecosistema: la capacidad de inhibir a *E. coli* se asoció fuertemente a la Mata Atlántica de Ilhéus en las cosechas de primavera, otoño y verano en caliente. En cambio, el entorno de Restinga en Sauípe orientó su potencial hacia la actividad antioxidante, alcanzando el máximo en la cosecha de verano procesada en frío (27,20%), cuyas moléculas resultaron ser altamente termolábiles y sufrieron degradación bajo calentamiento. Se concluye que la estandarización tecnológica universal para la geoprópolis regional es inviable. Para su aplicación segura como ingrediente funcional en la industria alimentaria, resulta obligatoria la selección personalizada del ecotipo y de la época de cosecha, ajustando la extracción al objetivo biológico deseado.

**Palabras Clave:** Geoprópolis; *Melipona scutellaris*; Bioprospección; Bioactividad.

## ABSTRACT

The search for natural additives and preservatives has driven the study of complex biological matrices such as geoprópolis, a resinous product modified by stingless bees whose chemical composition varies in response to geographic and seasonal factors. The objective of this study was to evaluate, through multivariate screening, the antimicrobial and antioxidant potential of geoprópolis extracts from *Melipona scutellaris* collected in the southern region of the state of Bahia, correlating their bioactivity with geographic location, time, and season of harvest. Hydroalcoholic extracts (10% w/v) were obtained using two processing methods: hot extraction (65 °C for 60 minutes in a water bath, repeated after 24 hours) and cold kinetic extraction (agitation and rest for 15 days). Antimicrobial activity was evaluated by the disk-diffusion method (Kirby-Bauer) in a 2×5×2 factorial design against reference strains *Staphylococcus aureus* (Gram-positive) and *Escherichia coli* (Gram-negative). Antioxidant capacity was determined by spectrophotometry through the DPPH free radical scavenging assay. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA), Tukey's multiple comparison test, and Principal Component Analysis (PCA). The first two components of the PCA explained 89,80% of the total data variability (PC1=56.47% and PC2=33.33%). PC1 reflected the synergy between antioxidant capacity and *S. aureus* inhibition ( $r=0.67$ ), while PC2 was dominated by the exclusive action against *E. coli*. The antimicrobial efficacy proved to be strictly selective based on the cell class, displaying significantly superior inhibition zones against the Gram-positive strain (20 mm), whereas the outer membrane of the Gram-negative strain restricted the phytochemical action. The multivariate model evidenced a clear ecosystem-linked aptitude: the ability to inhibit *E. coli* was strongly associated with the Atlantic Forest of Ilhéus in spring, autumn, and hot summer harvests. Conversely, the coastal Restinga environment in Sauípe directed its potential toward

antioxidant activity, reaching its peak in the cold-processed summer harvest (27.20%), whose molecules proved to be highly thermolabile and underwent degradation upon heating. In conclusion, a universal technological standardization for regional geopropolis is unfeasible. For its safe application as a functional ingredient in the food industry, a customized selection of the ecotype and harvesting season is mandatory, adapting the extraction method to the desired biological target.

**Keywords:** Geopropolis; *Melipona scutellaris*; Bioprospecting; Bioactivity.

## INTRODUÇÃO

De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), a própolis é uma mistura complexa de substâncias resinosas formada quando abelhas melíferas coletam partes de plantas como brotos, flores e exsudatos e acrescentam secreções salivares, formando o produto final (Brasil, 2020). Esse produto é utilizado pelas abelhas como elemento estrutural na construção e adaptação da colmeia, devido às suas propriedades mecânicas e antimicrobianas, que impedem a entrada de água e microrganismos que podem ser nocivos ao enxame (Gomes et al., 2024).

A composição química da própolis é amplamente variada, uma vez que já foram identificadas mais de 800 substâncias diferentes em própolis de diferentes localidades, dentre elas ácidos fenólicos, flavonoides, ésteres, diterpenos, lignanas, vitaminas e minerais, etc (Contieri et al., 2022). Essa variabilidade ocorre porque a composição química da própolis depende diretamente de sua origem geográfica, já que em diferentes ecossistemas as abelhas utilizam as matérias primas específicas daquele local para a elaboração do produto. Também já foi possível observar que em uma mesma localidade a composição da própolis pode mudar de acordo com a sazonalidade, a depender da época do ano em que o produto é coletado (Ghisalberti, 1979).

A própolis produzida por abelhas sem ferrão (subfamília *Meliponinae*, conhecidas como meliponídeos) possui terra ou barro em grande quantidade, o que aumenta o teor de minerais na composição, sendo então chamada de geoprópolis (Silva et al., 2023). Embora seja um conceito recente, a geoprópolis tem despertado grande atenção por apresentar propriedades tão promissoras quanto a própolis de outros tipos de abelhas, como a capacidade terapêutica, além da composição mineral que pode conferir propriedades diferenciadas e ainda pouco estudadas (Sousa et al., 2025).

Devido à riqueza de compostos orgânicos bioativos, a própolis e a geoprópolis são reconhecidas, estudadas e comercializadas visando agir como agentes antioxidantes, antimicrobianos, imunoreguladores, hepatoprotetores, anti-inflamatórios e até antivirais, entre outras funções (Kasote; Bankova; Viljoen, 2022). Sendo a atividade antimicrobiana uma de suas funções mais notáveis, essa característica está diretamente relacionada à concentração de seus compostos bioativos, que como discutido, variam de acordo com o tipo e a origem geográfica dos produtos. Na literatura, os principais componentes aos quais são atribuídas as propriedades antimicrobianas são os flavonoides (flavonas,

flavonóis e isoflavonas) e os ácidos fenólicos (Vieira; Santos; Ruela, 2021), grupos que integram os compostos fenólicos, substâncias orgânicas que possuem um anel aromático ligado a uma hidroxila em sua estrutura química, também reconhecidos pela sua ação antioxidante. O mecanismo da ação antimicrobiana da própolis consiste na redução da síntese de ATP, na diminuição da mobilidade microbiana, na alteração do potencial da membrana celular aumentando assim sua permeabilidade, além de induzir a resposta imune do hospedeiro acometido por infecções (Assis et al., 2022).

A utilização da própolis e geoprópolis em formulações de revestimentos ativos, antioxidantes naturais, embalagens antimicrobianas e conservantes naturais visando a extensão da vida útil de alimentos representa um campo potencialmente favorável, porém carente de exploração aprofundada. Assim, a própolis e a geoprópolis mostram-se produtos naturais promissores para incorporar formulações de alimentos funcionais, cosméticos e produtos farmacêuticos (Franchin et al., 2024). Embora a variabilidade de sua composição seja um desafio para padronizar produtos, é também uma oportunidade para a valorização da fauna e flora de uma determinada região.

Com base nisso, o presente trabalho tem como objetivo fornecer dados ainda pouco explorados sobre as atividades antimicrobiana e antioxidante da geoprópolis produzida na região sul do estado da Bahia, Brasil, contribuindo com a possível descoberta de compostos bioativos de interesse na área de alimentos, saúde e biotecnologia, além de valorizar um produto com grande relevância local.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **POTENCIAL DA GEOPRÓPOLIS E SEUS COMPOSTOS BIOATIVOS**

A geoprópolis é um produto natural complexo, reconhecido mundialmente pela sua riqueza em compostos bioativos. A sua fitoquímica é caracterizada pela presença predominante de compostos fenólicos e flavonoides como chalconas e quercetinas, além de triterpenos e cumarinas. Esses metabólitos secundários são os grandes responsáveis por conferir à geoprópolis as suas notáveis propriedades biológicas e farmacológicas, justificando o seu amplo uso terapêutico. O potencial antioxidante da geoprópolis está intimamente ligado às altas concentrações de compostos fenólicos e flavonoides. Esse sistema de defesa antioxidante atua de forma rigorosa na inibição e neutralização de radicais livres, reduzindo danos cumulativos nas células que poderiam levar a diversas doenças crônicas. Quimicamente, moléculas como os flavonoides conseguem atuar como varredores de radicais através da doação de átomos de hidrogênio presentes em suas estruturas hidroxil-aromáticas. Esse mecanismo interrompe as cadeias de oxidação e protege as membranas celulares contra a peroxidação lipídica e o estresse oxidativo. A geoprópolis também exibe uma expressiva ação antimicrobiana, sendo eficaz na inibição de cepas patogênicas de bactérias e fungos. O principal

mecanismo de ação antibacteriana desses compostos bioativos envolve a indução de alterações diretas na membrana plasmática dos microrganismos. O contato com os extratos da geoprópolis resulta no aumento da permeabilidade da membrana celular e na diminuição da mobilidade bacteriana. Além disso, a literatura demonstra que esses compostos podem suprimir a patogenicidade bacteriana, bloqueando o funcionamento estrutural da célula e induzindo a apoptose, levando à morte celular programada com degradação do DNA. Contudo, foi relatado uma divergência na inibição de microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, devido à composição da parede celular dessas bactérias. Enquanto bactérias Gram-positivas possuem uma parede celular única e espessa, as bactérias Gram-negativas apresentam uma estrutura mais complexa, que inclui uma membrana externa adicional. Essa barreira extra confere às bactérias Gram-negativas uma resistência maior contra a penetração e a ação de agentes antibacterianos naturais, dificultando a atuação dos compostos bioativos (Borges et al., 2025; Silva et al., 2025).

## **APLICAÇÃO FUNCIONAL NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS**

A crescente demanda dos consumidores por dietas mais saudáveis e produtos seguros tem impulsionado a indústria a buscar alternativas naturais para a substituição de aditivos e conservantes sintéticos. Nesse cenário, a geoprópolis desponta como uma matriz natural altamente promissora para a formulação de alimentos funcionais e nutracêuticos, uma vez que seus extratos apresentam menores efeitos adversos e maior segurança para tratamentos a longo prazo quando comparados aos agentes artificiais. Um dos grandes diferenciais que garantem essa segurança é o fato de a geoprópolis apresentar uma ação seletivamente tóxica: a literatura científica evidencia que os extratos são capazes de atacar intensamente patógenos e células problemáticas, ao mesmo tempo em que apresentam baixa toxicidade e não afetam as células saudáveis. O emprego funcional desses compostos bioativos tem sido direcionado não apenas para a ingestão direta, mas também para o desenvolvimento de inovações tecnológicas na conservação, como a criação de revestimentos ativos, embalagens antimicrobianas e antioxidantes naturais destinados a prolongar a vida de prateleira dos alimentos de forma segura. Apesar do seu potencial biológico, a incorporação direta da geoprópolis nas formulações da indústria alimentícia exige rigor científico. Por se tratar de um produto cuja composição química é influenciada por múltiplos fatores externos, o desempenho dos seus extratos pode ser imprevisível. Para que a indústria possa aplicar a geoprópolis como um ingrediente funcional de alta performance, é necessário superar o desafio da padronização e da validação de sua eficácia. É justamente nesse ponto que os ensaios de triagem de bioatividade se tornam essenciais. Ao mapear o comportamento antioxidante e antimicrobiano de diferentes extratos de forma detalhada, é possível selecionar os melhores perfis químicos, garantindo que apenas as frações com maior potencial conservante e terapêutico sejam

direcionadas para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios (Borges et al., 2025; Silva et al., 2025).

### **SAZONALIDADE, ORIGEM GEOGRÁFICA E A FLORA REGIONAL**

A composição química e o potencial bioativo da geoprópolis não são universais. Por ser um produto natural, a sua formulação é complexa e individualizada, sendo influenciada de forma direta pelas características geográficas da região, pela espécie de abelha produtora e, principalmente, pela flora local disponível para a coleta das resinas. Além da localização espacial, o fator temporal, caracterizado pela sazonalidade, exerce um papel determinante na performance biológica desses extratos. Estudos demonstram que a disponibilidade de recursos botânicos sofre alterações dependendo da época do ano, resultando em variações consideráveis na biossíntese e na concentração dos metabólitos secundários das plantas visitadas pelas abelhas. Estudos que avaliaram amostras coletadas em diferentes trimestres evidenciam diferenças químicas expressivas de um período para o outro, o que reforça que o clima e a sazonalidade modulam ativamente a composição final e as propriedades terapêuticas do produto (Borges et al., 2025). No cenário mundial, o Brasil se destaca por concentrar a maior diversidade de abelhas sem ferrão (meliponídeos) do planeta. Esse fenômeno é particularmente expressivo na região Nordeste, que abriga a maior predominância dessas espécies devido à sua vasta e exclusiva riqueza botânica. A abundância de espécies vegetais endêmicas e o regime de chuvas da região fornecem às abelhas insumos resinosos únicos, conferindo aos extratos nordestinos perfis químicos diferenciados que frequentemente resultam em altas concentrações de moléculas ativas (Silva et al., 2025). Diante dessa expressiva variabilidade, a padronização e a reprodutibilidade exata dos extratos de geoprópolis em larga escala tornam-se um grande desafio para a indústria alimentar e farmacêutica, uma vez que cada região e florada produzirá uma resina com propriedades únicas. No entanto, essas particularidades representam uma oportunidade para a descoberta de matrizes com alto potencial bioativo. Sendo assim, em vez de buscar uma padronização química universal, torna-se imprescindível a realização de ensaios de triagem de bioatividade em amostras de localidades específicas, como a região sul da Bahia. Essa triagem multivariada permite avaliar o desempenho prático e individualizado dos extratos, mapeando o seu real potencial antioxidante e antimicrobiano. Dessa forma, garante-se que, mesmo diante da variação natural do produto, a indústria possa selecionar os melhores perfis regionais e aplicá-los de forma segura e eficaz no desenvolvimento de inovações em alimentos (Borges et al., 2025; Silva et al., 2025).

## **PRINCÍPIOS FÍSICO-QUÍMICOS DA EXTRAÇÃO HIDROALCOÓLICA E TERMOLABILIDADE**

A extração dos compostos da própolis ocorre de forma diferente da extração de plantas medicinais clássicas, pois a própolis não possui uma matriz celular insolúvel. Assim, ao invés de uma difusão celular tradicional, ocorre uma dissolução parcial da matriz sólida e sua quebra em partículas menores, devido a natureza particulada deste material. Consequentemente, a transferência de massa e a liberação das substâncias ativas no solvente ocorram de maneira mais rápida. Temperaturas elevadas aceleram consideravelmente a taxa de extração, permitindo que a obtenção dos compostos ocorra em um tempo muito menor. Adicionalmente, também demonstra ser eficiente para quebrar e solubilizar frações mais apolares e resinosas, que costumam ser pegajosas e apresentar baixa solubilidade em temperaturas amenas. A literatura relata que a extração dessas frações, que possuem altas concentrações de ácidos diterpênicos e triterpenos, contribui muito para o potencial antibacteriano do extrato. Dessa forma, métodos térmicos podem melhorar a extração de resinas apolares altamente eficazes na inibição do crescimento de microrganismos patogênicos (Silva et al., 2025). Estudos demonstram que a temperatura ideal para maximizar o rendimento e reduzir o tempo do processo fica entre 60 °C e 65 °C na extração assistida por ultrassom, e pode chegar a 70 °C em processos de maceração com misturas de água e etanol (Bankova; Trusheva; Popova, 2021). No entanto, a utilização do calor exige cautela, pois a exposição prolongada da própolis a altas temperaturas traz o risco de quebra e degradação de moléculas sensíveis, denominados compostos termolábeis. Além disso, o calor aumenta indesejavelmente a solubilidade das ceras presentes na própolis. Por conta disso, processos contínuos a quente, como a extração por Soxhlet ou o uso de micro-ondas, podem até gerar um alto rendimento de massa, mas frequentemente resultam em uma menor concentração de compostos como fenóis e flavonoides e na redução do poder antioxidante do extrato. Como alternativa para proteger esses compostos sensíveis ao longo do tempo, utiliza-se a extração a frio, tipicamente conduzida em temperatura ambiente através do método de maceração. Esse é um processo cinético muito mais lento, exigindo de várias horas até períodos de 7 a 20 dias para que o solvente consiga dissolver eficientemente as partículas ativas. Porém, a ausência de calor garante que as moléculas termolábeis não sofram danos, preservando a integridade química, a pureza e o potencial terapêutico do extrato final (Silva et al., 2016, 2025).

## **METODOLOGIA**

### **OBTENÇÃO DA MATRIZ BIOLÓGICA**

As amostras de geoprópolis produzidas por abelhas sem ferrão da espécie *Melipona scutellaris* foram coletadas em distintos períodos sazonais por um produtor local na região sul do

estado da Bahia, Brasil. A amostragem foi viabilizada por meio de uma cooperação técnica com a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Campus de Itapetinga.

## **PREPARO DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS**

As cinco matrizes de geoprópolis foram codificadas sequencialmente com base em sua origem temporal e geográfica, compreendendo as amostras: P1 (Ilhéus, novembro/2021 - Primavera); P2 (Sauípe, dezembro/2021 - Primavera); P3 (Sauípe, janeiro/2022 - Verão); P4 (Ilhéus, fevereiro/2022 - Verão); e P5 (Ilhéus, março/2022 - Outono). Inicialmente, as amostras brutas foram criomoídas e pulverizadas com o auxílio de almofariz e pistilo até a obtenção de uma granulometria fina e homogênea. O delineamento do processo extrativo foi dividido em dois tratamentos:

- Extração Térmica: Alíquotas de 10 g de cada geoprópolis pulverizada foram pesadas em balança analítica e transferidas para béqueres contendo 100 mL de solução hidroalcoólica a 70° INPM. As suspensões foram submetidas à agitação manual imediata e submetidas a tratamento térmico em banho-maria a 65 °C por 60 min. Então, os recipientes foram hermeticamente vedados e mantidos em repouso por 24 h à temperatura ambiente. No dia seguinte, esse procedimento foi refeito utilizando as mesmas condições.
- Extração à Frio: Massas de 10 g de cada matriz pulverizada foram adicionadas a frascos Erlenmeyer contendo 100 mL de solução hidroalcoólica a 70° INPM. O sistema foi homogeneizado em agitador magnético por 5 min, vedado e mantido em repouso dinâmico ao abrigo da luz por um período de 15 dias, aplicando-se agitação mecânica diária por igual período.

Ao término dos respectivos períodos de extração, as soluções foram filtradas para a obtenção de extratos finais padronizados na concentração de 100 mg/mL (10% m/v). Os extratos foram envasados em frascos de vidro âmbar e identificados como P1Q a P5Q (extração a quente) e P1F a P5F (extração a frio).

## **MANUTENÇÃO E REATIVAÇÃO DOS INÓCULOS BACTERIANOS**

Para os ensaios de suscetibilidade, foram utilizadas as cepas de referência *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (Gram-positiva) e *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram-negativa), mantidas sob criopreservação. A reativação dos microrganismos foi conduzida por esgotamento em meio não seletivo Ágar Padrão para Contagem (MicroMed, Brasil) e incubação em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 h. Para a confirmação da pureza e viabilidade colonial, as culturas foram repicadas em seus respectivos meios seletivos: Ágar Sal Manitol (Acumedia) para *S. aureus* e Ágar Eosina Azul

de Metileno (EMB Levine; TM Media) para *E. coli*, sob incubação a 37 °C por 24 h.

## **AValiação DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO**

O perfil de sensibilidade antimicrobiana dos extratos foi determinado pelo método de difusão em disco (Kirby-Bauer), estruturado conforme as diretrizes normativas do Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (BrCAST). Como controles positivos de atividade, utilizaram-se discos comerciais de Ciprofloxacino (5 µg) para *E. coli* e Cefoxitina (30 µg) para *S. aureus*. Água ultrapura estéril foi empregada como controle negativo.

Colônias bacterianas isoladas e metabolicamente ativas obtidas dos meios seletivos foram suspensas em solução salina estéril (0,85% m/v) até atingirem uma turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala nefelométrica de MacFarland (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL). Os inóculos foram semeados uniformemente, com o auxílio de swabs estéreis, em placas de grande dimensão (150×20 mm) contendo Ágar Mueller-Hinton (Acumedia). Foram fixados quatro discos de papel filtro estéreis (6 mm de diâmetro) por placa, dispostos equidistantemente em triplicatas biológicas. Nos discos destinados aos tratamentos, foram inoculados 10 µL de cada extrato de geoprópolis (P1 a P5, nas variantes Q e F), os discos de controle negativo receberam 10 µL de água ultrapura. Após um período de pré-difusão de 5 min em temperatura ambiente, as placas foram invertidas e incubadas a 37 °C por 24 h. A atividade antimicrobiana foi quantificada por meio da mensuração do diâmetro dos halos de inibição do crescimento bacteriano (expressos em milímetros, mm) utilizando régua milimetrada de precisão.

## **DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

A capacidade de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) foi mensurada adaptando-se metodologias previamente consolidadas na literatura (Brand-Williams; Cuvelier; Berset, 1995).

Alíquotas de 1 mL de cada extrato bruto foram diluídas em 9 mL de água destilada (1:10 v/v) no interior de frascos Erlenmeyer. Então, foram adicionados 20 mL de álcool etílico 70° INPM e o sistema foi submetido à extração assistida por ultrassom (40 kHz) por 15 min (1º ciclo). Na sequência, foram realizados mais dois ciclos sob as mesmas condições, totalizando 45 min de tratamento acústico e um volume de extrato final de 50 mL. As suspensões foram transferidas para tubos Falcon e centrifugadas a 3000 rpm por 5 min para a segregação de fases, coletando-se exclusivamente o sobrenadante límpido.

Para a análise, foram transferidos 100 µL do sobrenadante purificado de cada amostra para tubos de ensaio protegidos da luz contendo 3,9 mL de solução metânica de DPPH 0,06 mM. Os

sistemas foram homogeneizados em agitador do tipo vórtex e mantidos no escuro por 60 min. As leituras de absorbância foram executadas em espectrofotômetro UV/Vis no comprimento de onda de 515 nm. O metanol puro foi utilizado como branco, e uma mistura composta por 3,9 mL de solução de DPPH 0,06 mM e 100 µL de metanol foi usada como controle negativo. A capacidade de varredura do radical (CA) foi calculada de acordo com a fórmula:

$$CA (\%) = \frac{[(\text{Absorbância}_{\text{Controle negativo}} - \text{Absorbância}_{\text{Amostra}})]}{\text{Absorbância}_{\text{Controle Negativo}}} \times 100$$

## DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados univariados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do software estatístico SAS Studio (SAS OnDemand for Academics) via procedimento *PROC GLM*.

Para os ensaios microbiológicos, utilizou-se Teste de Normalidade Shapiro-Wilk e posteriormente, ANOVA em arranjo fatorial 2×5×2, com delineamento inteiramente casualizado. Foram avaliados os efeitos principais e as interações entre os fatores: microrganismo (*S. aureus* e *E. coli*), matriz de geoprópolis (P1 a P5) e método extrativo (quente e frio), em triplicata analítica.

Para os dados de capacidade antioxidante, aplicou-se One-Way ANOVA para a discriminação dos tratamentos. Constatada significância estatística ( $p < 0,05$ ), procedeu-se à comparação múltipla de médias por meio do teste de Tukey ajustado por médias quadráticas (*LSMeans*). Os dados univariados foram expressos como média ± desvio-padrão.

Os dados combinados foram submetidos à análise estatística multivariada. Aplicou-se a Análise de Componentes Principais (PCA) sobre a matriz de dados previamente padronizada por autocorrelação (*autoscaling*), estabelecendo as correlações espaciais e temporais das matrizes produtoras.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A avaliação do potencial antimicrobiano dos extratos de geoprópolis revelou perfis distintos de bioatividade frente aos microrganismos testados. Os valores consolidados dos halos de inibição obtidos para *S. aureus* encontram-se dispostos na Tabela 1, enquanto o comportamento da susceptibilidade de *E. coli* está sintetizado na Tabela 2, evidenciando a influência imediata da origem temporal/geográfica da matriz e do método extrativo aplicado.

**Tabela 1:** Susceptibilidade antimicrobiana dos diferentes extratos de geoprópolis utilizando métodos diversos de extração frente ao microrganismo referência *S. aureus* ATCC 29213.

| Tipos de extratos | CP (mm)  | CN (mm) | Média EQ (mm) | Média EF (mm) |
|-------------------|----------|---------|---------------|---------------|
| P1                | 37 ± 0.5 | 0 ± 0.0 | 20 ± 2.0      | 15 ± 1.0      |
| P2                | 37 ± 0.5 | 0 ± 0.0 | 14 ± 1.7      | 16 ± 1.0      |
| P3                | 37 ± 0.5 | 0 ± 0.0 | 15 ± 2.8      | 17 ± 0.6      |
| P4                | 37 ± 0.5 | 0 ± 0.0 | 14 ± 0.6      | 15 ± 1.0      |
| P5                | 37 ± 0.5 | 0 ± 0.0 | 18 ± 2.5      | 17 ± 4.0      |

**Legenda:** EQ - Extratos preparados usando o método de extração a quente; EF - Extratos preparados usando o método de extração a frio; CP - Controle Positivo (Cefoxitina 30 mcg); CN - Controle Negativo (água destilada estéril); ± - Desvio Padrão. **Fonte:** Autores (2025).

**Tabela 2:** Susceptibilidade antimicrobiana dos diferentes extratos de geoprópolis utilizando diferentes métodos de extração frente ao microrganismo referência *E. coli* ATCC 25922.

| Tipos de extratos | CP (mm)  | CN (mm) | Média EQ (mm) | Média EF (mm) |
|-------------------|----------|---------|---------------|---------------|
| P1                | 37 ± 0.5 | 0 ± 0.0 | 12 ± 1.2      | 13 ± 0.0      |
| P2                | 37 ± 0.5 | 0 ± 0.0 | 11 ± 1.0      | 9.5 ± 0.7     |
| P3                | 37 ± 0.5 | 0 ± 0.0 | 11 ± 0.0      | 8.0 ± 0.6     |
| P4                | 37 ± 0.5 | 0 ± 0.0 | 14 ± 0.0      | 10 ± 0.0      |
| P5                | 37 ± 0.5 | 0 ± 0.0 | 13 ± 1.1      | 13.5 ± 0.7    |

**Legenda:** EQ - Extratos preparados usando o método de extração a quente; EF - Extratos preparados usando o método de extração a frio; CP - Controle Positivo (Ciprofloxacino 5 mcg); CN - Controle Negativo (água destilada estéril); ± - Desvio Padrão. **Fonte:** Autores (2025).

A ANOVA fatorial revelou que o modelo preditivo global foi altamente significativo ( $p < 0,0001$ ), demonstrando excelente ajuste estatístico. O coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,7098$ ) indicou que aproximadamente 71% de toda a variabilidade fenotípica observada nos diâmetros dos halos de inibição é explicada pelos fatores isolados e pelas suas respectivas interações bi e trifatoriais.

O tipo de microrganismo sob ensaio foi o fator independente de maior impacto sobre a variância dos dados ( $p < 0,0001$ ). A análise comparativa entre espécies revela um padrão, na qual independentemente da matriz de geoprópolis ou do método extrativo aplicado, os perfis de inibição foram consistentemente mais expressivos frente à cepa de *S. aureus* quando comparados aos diâmetros de halos gerados contra *E. coli*. Essa maior vulnerabilidade acentuada na cepa Gram-positiva (*S. aureus*) se deve à estrutura da sua parede celular. Diferente das bactérias Gram-negativas (*E. coli*), que possuem uma membrana externa lipopolissacarídica rica em porinas que atua como uma barreira hidrofóbica altamente seletiva contra macromoléculas, as Gram-positivas dispõem de uma parede constituída essencialmente por uma malha porosa de peptidoglicanos. Essa configuração anatômica facilita a difusão transmembranar passiva das frações lipofílicas, compostos fenólicos,

flavonoides e resinas constituintes da geoprópolis, promovendo a lise celular de forma mais severa.

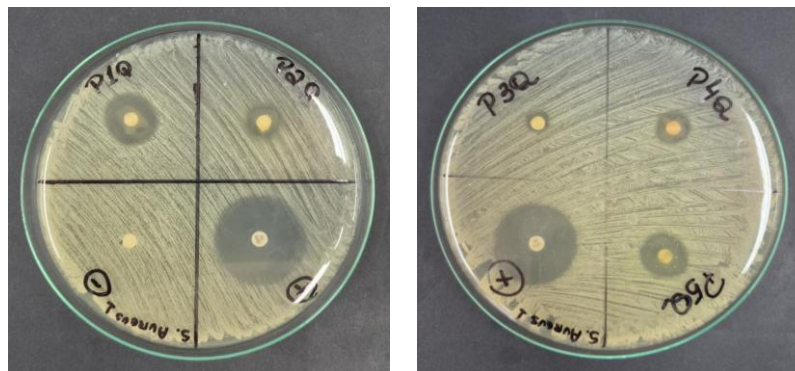
Essa resistência relativa observada para a cepa Gram-negativa corrobora com resultados previamente publicados, que apontam uma bioatividade sabidamente limitada da própolis e da geoprópolis contra bacilos Gram-negativos (Gonsales et al., 2006). Em outro estudo, ensaios conduzidos com extratos de geoprópolis de *Melipona subnitida* evidenciaram halos variando entre 6 e 16 mm contra *E. coli*, e de 5 a 12 mm contra *S. aureus*, valores que variaram conforme a concentração testada (Sousa et al., 2015). No entanto, é importante ressaltar que os diâmetros máximos reportados foram obtidos sob uma concentração drástica de 100 mg/mL. Critérios de triagem fitoquímica preconizam o limiar de 0,1 mg/mL como o valor mínimo tolerável para a atribuição de uma atividade antimicrobiana relevante para extratos brutos. Nesse contexto, o comportamento observado no presente estudo reforça a baixa eficácia dessas matrizes contra bactérias Gram-negativa, mas também demonstra como a variabilidade geográfica da composição do geoprópolis modula o perfil final de halos inibitórios.

Em contrapartida, o padrão de resposta neste trabalho superou expressivamente os achados da literatura contra *S. aureus* (Sousa et al., 2015). Em outros estudos, investigações com extratos de *Apis mellifera* exibiram halos de tamanho equivalente (10 a 15 mm), porém operando em uma concentração inferior (10 mg/mL), sugerindo que a concentração dos extratos também pode ser um fator relevante para novos estudos, visando determinar a concentração de maior desempenho e o limiar a partir do qual a eficácia se estabiliza (Campos et al., 2011).

Analisando os resultados da interação tripla ( $p=0,0034$ ) considerando a eficiência de processo, a superioridade do método de extração a quente consolida-se não por um aumento drástico e generalizado nos diâmetros dos halos em relação a extração a frio, mas sim por atingir uma eficiência antimicrobiana semelhante em um tempo muito mais curto. O comportamento das matrizes P5 e P1 evidencia essa dinâmica de otimização. Para a geoprópolis P5, tanto o tratamento a quente quanto a frio exibiram respostas de alta magnitude e numericamente semelhantes contra *S. aureus* (18 mm e 17 mm, respectivamente) e *E. coli* (13 mm e 13,5 mm, respectivamente). Caso semelhante foi observado para a matriz P1 contra a cepa Gram-negativa, onde o método a frio registrou 13 mm e o método a quente fixou-se em 12 mm. Esses resultados indicam que o uso de ambos os tratamentos foram eficientes quanto a extração dos compostos bioativos para o solvente. Do ponto de vista biotecnológico e industrial, o método a quente viabiliza a obtenção de extratos com performance antimicrobiana equivalente em apenas 3 dias de processamento, eliminando a necessidade dos longos períodos de extração exigidos pela maceração a frio (7 a 20 dias). O único ganho inibitório absoluto e expressivo promovido pelo aquecimento ocorreu na matriz P1 contra o *S. aureus*, elevando o halo de 15 mm (frio) para o ápice de 20 mm (quente).

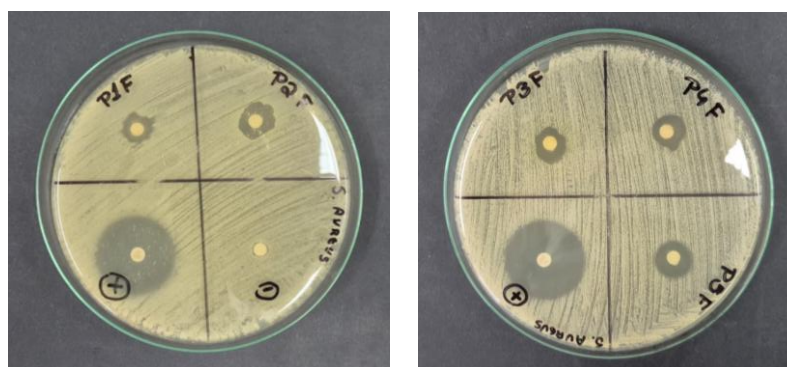
Os aspectos macroscópicos dos ensaios de difusão em disco estão documentados nas Figuras 1, 2, 3 e 4. Esses registros ilustram, de forma nítida, a diferenciação visual do potencial inibitório condicionada pelo tipo de extrato, protocolo de extração e alvo bacteriano avaliado.

**Figura 1:** Halos de inibição formados em placas contendo *S. aureus*, frente a amostras de extração a quente.



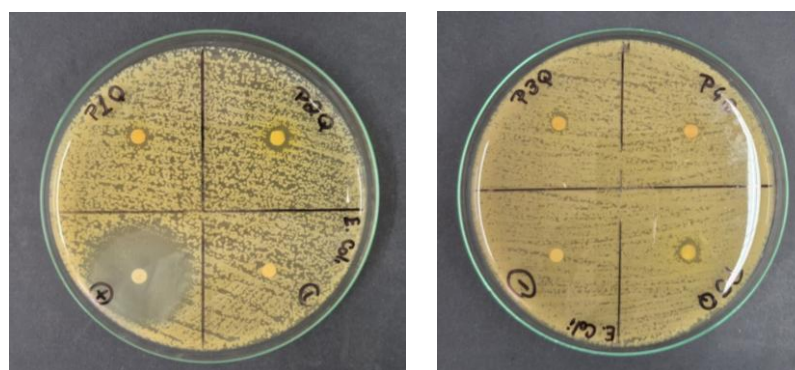
**Legenda:** *S. aureus* ATCC 29213; Amostras de Geoprópolis P1Q a P5Q; “-” – Controle Negativo (Água destilada estéril); “+” – Controle Positivo (Cefoxitina 30 µg). **Fonte:** Autores (2025).

**Figura 2:** Halos de inibição formados em placas contendo *S. aureus*, frente a amostras de extração a frio.

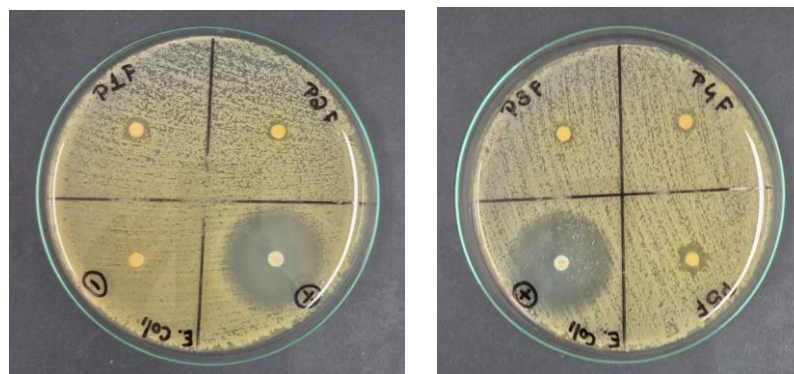


**Legenda:** *S. aureus* ATCC 29213; Amostras de Geoprópolis P1F a P5F; “-” – Controle Negativo (Água destilada estéril); “+” – Controle Positivo (Cefoxitina 30 µg). **Fonte:** Autores (2025).

**Figura 3:** Halos de inibição formados em placas contendo *E. coli*, frente a amostras de extração a quente.



**Legenda:** *E. coli* ATCC 25922; Amostras de Geoprópolis P1Q a P5Q; “-” – Controle Negativo (Água destilada estéril); “+” – Controle Positivo (Ciprofloxacino 5 µg). **Fonte:** Autores (2025).

**Figura 4:** Halos de inibição formados em placas contendo *E. coli*, frente a amostras de extração a frio.

**Legenda:** *E. coli* ATCC 25922; Amostras de Geopropolis P1F a P5F; “-” – Controle Negativo (Água destilada estéril); “+” – Controle Positivo (Ciprofloxacino 5 µg). **Fonte:** Autores (2025).

A comparação individual entre as matrizes de geoprópolis usando o teste de comparações múltiplas de Tukey (Tabela 3) indicou uma homogeneidade estatística entre a maioria das amostras. A única divergência significativa registrada para o efeito principal isolado ocorreu no contraste entre P1 e P2 ( $p=0,0319$ ), com P1 exibindo uma superioridade média de 3,25 mm. As demais comparações lineares não acusaram relevância estatística, evidenciando que, sob condições individuais, as matrizes P2, P3, P4 e P5 compartilham perfis de equivalência.

Tabela 3: Comparação e diferença (em mm) das médias dos halos de inibição entre pares de cada um dos extratos.

| Comparação | Diferença (mm) | Probabilidade | Resultado     |
|------------|----------------|---------------|---------------|
| P1 vs P2   | +3,25          | 0.0319        | significativa |
| P1 vs P3   | +2,50          | 0.1537        | ns            |
| P1 vs P4   | +1,50          | 0.6288        | ns            |
| P1 vs P5   | +0,83          | 0.9349        | ns            |
| P2 vs P3   | -0,75          | 0.9549        | ns            |
| P2 vs P4   | -1,75          | 0.4829        | ns            |
| P2 vs P5   | -2,42          | 0.1787        | ns            |
| P3 vs P4   | -1,00          | 0.8812        | ns            |
| P3 vs P5   | -1,66          | 0.5310        | ns            |
| P4 vs P5   | -0,67          | 0.9704        | ns            |

**Legenda:** P1 a P5 – amostra de geoprópolis classificada de acordo com a metodologia; “vs” - versus; “ns” - não significativa. **Fonte:** Autores (2025).

Contudo, analisando o comportamento fitoquímico frente a cada cenário biológico específico, observa-se que, para a *E. coli*, o tratamento P4Q despontou com o maior diâmetro numérico do ensaio, alcançando um halo de 14,00 mm (Tabela 2). Esse resultado é importante porque mostra que, apesar da proteção natural que as bactérias Gram-negativas possuem, o aquecimento facilitou a extração dos compostos ativos da amostra P4. Por outro lado, o tratamento a frio nessa amostra, assim como em P2 e P3, levou a uma menor eficiência e a maior variação dos resultados em comparação com extração a quente, sugerindo que a falta de calor limitou a extração de certos compostos ou deixou as moléculas ativas instáveis, prejudicando a formação dos halos nas placas. Pesquisas com o extrato de geoprópolis da abelha sem ferrão *Plebeia aff. Flavocincta* relataram halos de tamanhos similares contra essa classe de bactérias, com média de 13 mm e 14 mm nas concentrações de 75% e 100% contra a *E. coli*. Esses valores foram iguais ou superiores ao efeito da amoxicilina (10 µg), usada como controle positivo no ensaio (Silva et al., 2016).

Essas semelhanças com a literatura reforçam que a composição da geoprópolis e sua atividade dependem de uma combinação de vários fatores, como a localização geográfica, as plantas visitadas pelas abelhas, a época da coleta e o método de extração. Tudo isso influencia diretamente a resposta de cada bactéria. Assim, a interação tripla significativa confirma que não podemos generalizar os resultados. O uso da geoprópolis exige identificar a combinação exata de extrato e método para combater cada microrganismo específico.

## ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A ANOVA confirmou que a capacidade antioxidante variou significativamente entre os tratamentos ( $p < 0,0001$ ), mostrando que tanto a origem da geoprópolis quanto o método de extração influenciam esse resultado. O modelo estatístico apresentou alta consistência, com coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,8989$ ) explicando cerca de 90% da variação dos dados.

Os dez tratamentos avaliados mostraram grandes diferenças na capacidade antioxidante (Tabela 4). Os melhores resultados foram alcançados pelos extratos P3F (27,20%), P5Q (26,55%) e P4F (22,85%), seguidos por P1Q (21,33%) e P5F (20,31%). Valores moderados foram observados em P2F (18,54%), P1F (15,25%) e P4Q (12,00%). Em contrapartida, os extratos P3Q (5,73%) e P2Q (3,03%) apresentaram as menores atividades do ensaio, sugerindo que nessas matrizes, o aquecimento pode ter degradado compostos antioxidantes sensíveis ao calor ou que o método a quente foi pouco eficiente para sua extração.

Tabela 4: Capacidade Antioxidante (%) de cada extrato de acordo com o método de extração, utilizando o método de DPPH.

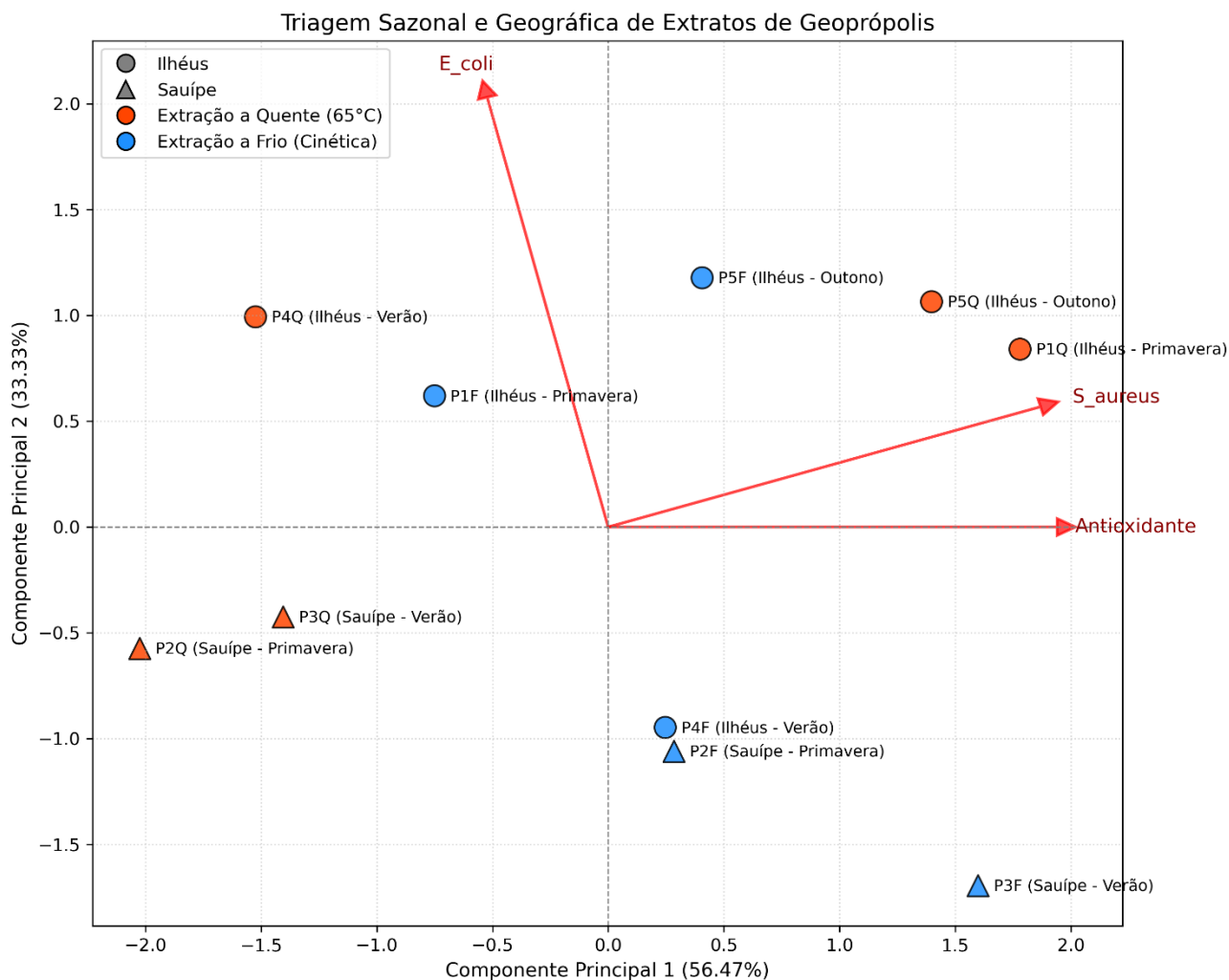
| Extrato | Capacidade Antioxidante (%) | Desvio padrão |
|---------|-----------------------------|---------------|
| P1Q     | 21,33abc                    | 8,49          |
| P2Q     | 3,03c                       | 6,36          |
| P3Q     | 5,73bc                      | 4,24          |
| P4Q     | 12,00abc                    | 0,00          |
| P5Q     | 26,55 <sup>a</sup>          | 10,69         |
| P1F     | 15,25abc                    | 3,51          |
| P2F     | 18,54abc                    | 4,24          |
| P3F     | 27,20 <sup>a</sup>          | 2,83          |
| P4F     | 22,85ab                     | 8,14          |
| P5F     | 20,31abc                    | 10,61         |

**Legenda:** P1 a P5 – amostra de geoprópolis classificada de acordo com a metodologia; Q – extração a quente; F – extração a frio. **Fonte:** Autores (2025).

De forma geral, os resultados demonstram que a atividade antioxidante depende muito da origem da amostra e do método extrativo utilizado. Como algumas matrizes perderam eficiência com o aquecimento e outras se beneficiaram dele, confirma-se que o método a quente não é uma regra para todos os ecotipos, sendo a interação entre esses fatores o que realmente define o potencial antioxidante do extrato. Contudo, a eficiência da extração a frio para preservar compostos antioxidantes, como fenólicos e flavonoides, já foi descrita na literatura. Em ensaios com geoprópolis de *Plebeia aff. flavocincta* preparada por maceração a frio durante 20 dias na proporção de 1:3, foi alcançada uma capacidade antioxidante de até 94% pelo método do DPPH (Silva et al., 2016). Esse percentual é superior ao limite de cerca de 30% observado neste estudo, o que indica que o uso de períodos maiores de extração e concentrações mais elevadas de matéria-prima são determinantes para aumentar o potencial antioxidante.

## ABORDAGEM MULTIVARIADA E INFLUÊNCIA AGROAMBIENTAL

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi utilizada para compreender a integração entre as propriedades biológicas das geoprópolis e sua relação com a localização geográfica, a época e a estação do ano da colheita. Os dois componentes principais explicaram, juntos, 89,80% da variabilidade total dos dados (PC1: 56.47% and PC2: 33.33%), confirmando que esse modelo multivariado resume com alta fidelidade o comportamento dos ensaios em um plano bidimensional.



O primeiro componente principal (PC1) refletiu a sinergia entre a capacidade antioxidante e a inibição de *S. aureus*, agrupando fortemente essas duas variáveis devido à forte correlação existente entre elas ( $r=0,67$ ). Assim, o deslocamento para a direita no eixo horizontal indica extratos com maior potencial antioxidante e eficácia contra a cepa Gram-positiva. Por sua vez, o segundo componente (PC2) foi dominado de forma quase exclusiva pela inibição de *E. coli* (carga de 0,96), funcionando como um eixo independente que mede a eficiência específica contra a barreira da bactéria Gram-negativa.

A distribuição das amostras revelou que a capacidade de inibir a *E. coli* é uma propriedade fortemente associada ao ecossistema de Mata Atlântica de Ilhéus (Salatino; Salatino; Negri, 2021). Todas as amostras que se projetaram na metade superior do gráfico, acima de zero no eixo Y, pertencem a essa localidade, abrangendo colheitas da primavera (P1), verão (P4Q) e outono (P5). Isso sugere que a riqueza botânica de Ilhéus confere à geoprópolis uma assinatura química única para combater Gram-negativas, dependendo apenas do método extrativo adequado para liberar esses

ativos. Em contrapartida, a metade inferior do gráfico concentrou todas as matrizes do ecossistema de Restinga de Sauípe e apenas uma amostra de Ilhéus, a P4F. Esse agrupamento indica que a flora litorânea de Sauípe, independentemente da época do ano ou do método de extração, não fornece os compostos necessários para afetar a *E. coli*. No caso de Ilhéus no verão, a presença de P4F nessa zona de baixa eficiência demonstra que o método a frio foi incapaz de solubilizar as frações ativas de verão, sendo necessário o estímulo térmico presente na P4Q para que o extrato melhorasse sua atividade contra bactérias Gram-negativa. De forma complementar, pode-se observar que as amostras de Sauípe foram dispostas em regiões opostas à origem dos vetores, seguindo em direção ao quadrante oposto. Isso indica que, no panorama geral, as matrizes dessa região apresentaram menor eficiência frente aos alvos testados, com a exceção notável do tratamento P3F. Enquanto o processo a quente prejudicou drasticamente o potencial das amostras desse ecossistema (P2Q e P3Q), a extração a frio da geoprópolis obtida no verão (P3F) destacou-se ao projetar-se na direção do vetor de capacidade antioxidante, confirmando o maior valor do ensaio (27,20%). Esse comportamento sugere que, embora a Restinga de Sauípe não favoreça o perfil antimicrobiano, ela é capaz de gerar compostos antioxidantes altamente potentes, desde que preservados por um método de extração sem calor (Brighente et al., 2007).

## CONCLUSÕES

A avaliação das propriedades biológicas das geoprópolis de *Melipona scutellaris* no sul da Bahia revelou que o potencial biotecnológico desse produto natural é determinado de forma dinâmica pela sua origem agroambiental e sazonal. A PCA conseguiu demonstrar que a eficácia antimicrobiana é estritamente seletiva em função da classe celular do microrganismo. A ação inibitória mostrou-se expressivamente superior contra a bactéria Gram-positiva *S. Aureus*, provavelmente devido à sua parede celular porosa de peptidoglicanos, ao passo que a membrana externa natural das Gram-negativas pode ter atuado como uma barreira hidrofóbica que limitou a eficiência dos extratos frente à *E. coli*.

Além da classe celular do microrganismo, o modelo estatístico evidenciou uma clara aptidão fitoquímica vinculada ao ecossistema e à época da colheita. A capacidade de inibir a *E. coli* mostrou-se fortemente associada ao ambiente de Mata Atlântica de Ilhéus nas coletas de primavera, outono e verão a quente. Em contrapartida, a geoprópolis do ecossistema costeiro de Restinga em Sauípe apresentou um desempenho limitado no panorama geral, contribuindo de forma menos expressiva para as variáveis biológicas avaliadas. A única exceção a esse comportamento foi a coleta de verão processada pelo método a frio, que alcançou o ápice de atividade antioxidante do ensaio, indicando que os compostos ativos dessa matriz litorânea são altamente termolábeis e sofrem degradação

drástica sob aquecimento.

Nesse contexto, torna-se obrigatório a modelagem de seleção local e da época de colheita, ajustando o método de extração de acordo com o alvo biológico que a indústria de alimentos deseja priorizar.

## REFERÊNCIAS

- ASSIS, Maria Angélica De Sá *et al.* Antimicrobial and Antibiofilm Effect of Brazilian Green Propolis Aqueous Extract against Dental Anaerobic Bacteria. **Molecules**, v. 27, n. 23, p. 8128, 22 nov. 2022.
- BANKOVA, Vassya; TRUSHEVA, Boryana; POPOVA, Milena. Propolis extraction methods: a review. **Journal of Apicultural Research**, v. 60, n. 5, p. 734–743, 20 out. 2021.
- BORGES, Maria Gabriella Da Silva Albuquerque *et al.* Antibacterial and Antioxidant Properties of Geopropolis Extracts from Stingless Bees ( *Meliponinae* ) Occurring in Brazilian Territory. **Chemistry & Biodiversity**, v. 22, n. 7, p. e202403467, jul. 2025.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- BRASIL. Decreto Nº 10.468, de 18 de agosto de 2020. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). . 2020.
- BRIGHENTE, I. M. C. *et al.* Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Some Brazilian Species. **Pharmaceutical Biology**, v. 45, n. 2, p. 156–161, jan. 2007.
- CAMPOS, Viviane Aparecida Costa *et al.* Antibacterial activity of propolis produced by Frieseomelitta varia. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1043–1049, dez. 2011.
- CONTIERI, Letícia S. *et al.* Standardization proposal to quality control of propolis extracts commercialized in Brazil : A fingerprinting methodology using a UHPLC-PDA-MS/MS approach. **Food Research International**, v. 161, p. 111846, nov. 2022.
- FRANCHIN, Marcelo *et al.* Food-grade delivery systems of Brazilian propolis from Apis mellifera: From chemical composition to bioactivities in vivo. **Food Chemistry**, v. 432, p. 137175, jan. 2024.
- GHISALBERTI, E. L. Propolis: A Review. **Bee World**, v. 60, n. 2, p. 59–84, jan. 1979.
- GOMES, Karolina Oliveira *et al.* Chemical characterization and antibacterial activities of Brazilian propolis extracts from Apis mellifera bees and stingless bees (Meliponini). **PLOS ONE**, v. 19, n. 7, p. e0307289, 16 jul. 2024.
- GONSALES, G. Z. *et al.* Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 12, n. 2, abr. 2006.
- KASOTE, Deepak; BANKOVA, Vassya; VILJOEN, Alvaro M. Propolis: chemical diversity and challenges in quality control. **Phytochemistry Reviews**, v. 21, n. 6, p. 1887–1911, dez. 2022.

SALATINO, Antonio; SALATINO, Maria Luiza Faria; NEGRI, Giuseppina. How diverse is the chemistry and plant origin of Brazilian propolis? **Apidologie**, v. 52, n. 6, p. 1075–1097, dez. 2021.

SILVA, Elen Vanessa Costa Da *et al.* Obtenção e caracterização do extrato aquoso de geoprópolis da abelha *Melipona fasciculata*. **Peer Review**, v. 5, n. 25, p. 60–71, 6 dez. 2023.

SILVA, Jardel B. *et al.* Quantificação de fenóis, flavonoides totais e atividades farmacológicas de geoprópolis de *Plebeia aff. Flavocincta* do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 9, p. 874–880, set. 2016.

SILVA, Jonilson De Melo E. *et al.* Propolis and geopropolis from stingless bees as a source of bioactive compounds with antioxidant and antimicrobial action: A review. **Food Research International**, v. 214, p. 116674, ago. 2025.

SOUSA, Adab Gledson Alcântara De *et al.* PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS: UMA REVISÃO SOBRE PROPRIEDADES, APLICAÇÕES E PERSPETIVAS FUTURAS. **Revista DCS**, v. 22, n. 83, p. e3631, 23 out. 2025.

SOUSA, Déborah Munique Nogueira de *et al.* Phytochemical screening, in vitro toxicity and evaluation of antioxidant and antibacterial activities of jandaíra bee's geopropolis. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n. 2, 13 nov. 2015.

VIEIRA, Amanda Araújo; SANTOS, Milena Soares dos; RUELA, André Luís Moraes. EMULGEL BASEADO EM QUITOSANA CONTENDO EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA PARA TRATAMENTO DE INFECÇÕES VULVOVAGINAIS. **Journal of Biology**, v. 17, n. 1, 2021.