

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA GELÉIA REAL OBTIDA PELA SUPLEMENTAÇÃO DE ABELHAS *APIS MELLIFERA* AFRICANIZADAS

Mariellen Guilherme dos Santos; Dayane Aparecida dos Santos; Angela Kwiakowski; Maria Josiane Sereia; Livia Bracht*

UTFPR - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão, PR.

Resumo: O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes amostras de geléia real obtida por abelhas suplementadas, frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus* pelo método de difusão em disco de papel filtro. A geléia real foi produzida por abelhas *Apis mellifera* africanizadas alimentadas com suplemento completo contendo óleo de linhaça e palma; suplemento contendo apenas óleo de linhaça; suplemento contendo apenas óleo de palma ou sem suplementação. Amostras obtidas das diferentes suplementações foram aplicadas em discos de papel em concentrações de 0 a 100%. Todas as amostras de geléia real foram capazes de inibir o crescimento do microrganismo em um efeito dose-dependente. Não foi observada diferença entre a atividade antimicrobiana das geléias reais obtidas das abelhas suplementadas e da geléia real obtida de abelhas não suplementadas.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana. *Staphylococcus aureus*. Geléia real. Abelhas africanizadas suplementadas.

Antimicrobial potential of royal jelly from supplemented *Apis mellifera* africanized honey bees. The aim of this paper was to study the *in vitro* antimicrobial activity of royal jelly obtained from supplemented honey bees against the microorganism *Staphylococcus aureus* using the disk diffusion method. The royal jelly was obtained from *Apis mellifera* africanized honey bees fed with complete supplement constituted of palm oil plus linseed oil, palm oil alone, linseed oil alone and with no supplementation. Samples obtained from the different supplementations were applied to paper disks in the concentration range 0-100%. All the samples of royal jelly were able to inhibit the growth of *S. aureus* in a dose-dependent manner. There was no difference between the antimicrobial activity of the different samples of royal jelly obtained from supplemented or not supplemented bees.

Keywords: Antimicrobial activity. *Staphylococcus aureus*. Royal jelly. Supplemented africanized honey bees.

1 Introdução

A geléia real é secretada pelas glândulas mandibulares e hipofaríngeas das abelhas operárias jovens, para alimentar diretamente a rainha e as larvas de abelhas com quatro a cinco dias de idade (CRANE, 1990). Possui consistência cremosa, sabor ácido, cor branco-leitosa. Seu principal componente químico é uma proteína de alta qualidade (designada proteína elemento R) (12-18%), além de água (65%), sacarose (9-18%), ácidos graxos (5%), minerais (potássio, sódio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, zinco e silício), vitaminas (B1, B2, ácido nicotínico, ácido pantotênico, B6, B8, A, C, D e E) e aminoácidos (total de 23, incluindo os 8 essenciais) (NASSIS *et al.*, 1998). Inúmeras atividades biológicas já foram atribuídas para a geléia real, entre elas, a atividade antimicrobiana. NASSIS *et al.* (1995) mostraram que a geléia real possui atividade antibacteriana frente a microrganismos Gram-negativos (*P. aeruginosa* e *Salmonella* sp).

A suplementação alimentar de abelhas é realizada com a finalidade de manter a qualidade nutricional da dieta das abelhas durante outono e inverno, quando a disponibilidade de alimentos é reduzida. Dependendo da composição da ração utilizada para suplementação alimentar, podem ocorrer alterações na composição química da geléia real. Nenhum estudo foi ainda realizado, entretanto, para averiguar se as atividades biológicas da geléia real se modificam com a alteração da dieta das abelhas. Portanto, o objetivo do presente estudo foi o de investigar a atividade antimicrobiana *in vitro* de amostras de geléia real obtidas

pela suplementação de abelhas africanizadas, frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*, contaminante comumente encontrado em alimentos.

2 Materiais e métodos

A geléia real foi produzida no Setor de Apicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Foram utilizadas abelhas africanizadas alimentadas por suplementos (ração). Os tratamentos consistiram de um suplemento (SLiPa) elaborado com mistura de óleo de linhaça e óleo de palma, levedo de cerveja, proteína isolada de soja, mel, açúcar, pólen, açúcar mascavo, lecitina de soja, complexo vitamínico, ácido ascórbico, ácido glutâmico, e aroma natural de vanila, e outras duas rações nas quais, a mistura de óleo de linhaça e óleo de palma, foi substituída por óleo de linhaça (SLi) e óleo de palma (SPa). No tratamento controle (SC) as colônias não foram suplementadas.

A avaliação da atividade antimicrobiana da geléia real frente ao *S. aureus* foi realizada no Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Campus Campo Mourão. As cepas de *Staphylococcus aureus* foram obtidas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UTFPR. Culturas bacterianas de 24 horas foram utilizadas para o preparo de uma suspensão de bactérias na escala 0,5 de McFarland (aproximadamente 10⁸ UFC/mL). Para obtenção desta suspensão bacteriana, as bactérias foram diluídas em solução salina estéril até se obter turvação semelhante à de

*e-mail: liviabracht@gmail.com

uma solução contendo 0,5 mL de BaCl₂ (0,48mol/L) e 99,5 mL de H₂SO₄ (0,36 N). Esta suspensão bacteriana foi adicionada às placas com Ágar Müller Hinton utilizando-se swab estéril. Em seguida foram aplicados 20 µL de geléia real diluída em água destilada estéril nas concentrações de 0, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100% em discos de papel filtro estéreis. Após aplicação dos discos de papel as placas foram incubadas por 24 horas a 37°C, com posterior avaliação do diâmetro do halo de inibição. Todas as análises foram realizadas em triplicatas. Os resultados foram obtidos pela subtração do diâmetro do halo de inibição pelo diâmetro dos discos de papel (6mm), expressos como média ± desvio padrão e analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA), com nível de significância de 5%. O teste Tukey foi utilizado para localizar diferenças obtidas na ANOVA, através do pacote para microcomputador GraphPad Prism® (versão 4.0).

3 Resultados e discussão

Os resultados médios dos halos de inibição do crescimento de *S. aureus* por geléias reais produzidas por abelhas suplementadas com rações em época de não florada podem ser visualizados na Tabela 1. Pode-se observar que todas as amostras de geléia real apresentaram atividade antimicrobiana *in vitro* frente ao microrganismo *S. aureus*. Adicionalmente, o efeito foi dose-dependente para a amostra SLiPa, sendo que o halo de inibição formado na concentração de 50% de geléia real foi aproximadamente metade do halo obtido com a concentração de 100%. As amostras SLi, Spa e SC apresentaram atividade antimicrobiana a partir da concentração 50%, sendo que o efeito antimicrobiano também aumentou proporcionalmente com o aumento de concentração. A atividade antimicrobiana máxima foi obtida com a concentração de 100% para todas as amostras suplementadas, não havendo diferença significativa entre os tratamentos nesta concentração (p>0,05).

Tabela 1: Diâmetro do halo de inibição de diferentes amostras de geléia real frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*.

Concentração da geléia real (%)	Tamanho do halo de inibição (mm)			
	SLiPa	SLi	SPa	SC
0	0a	0a	0a	0a
40	2,3 ± 0,6a	0a	0a	0a
50	7,2 ± 1,1b	2,7 ± 0,6a	8,8 ± 2,7b	6,5 ± 2,6b
60	8,0 ± 0b	5,0 ± 1,0a	9,8 ± 1,9b	11 ± 2,6c
70	8,7 ± 0,3b	6,7 ± 2,1b	8,7 ± 0,2b	8,3 ± 1,1bc
80	9,3 ± 2,5b	7,5 ± 0,9b	8,9 ± 1,7b	8,3 ± 1,1bc
90	8,9 ± 1,3b	10,0 ± 2,8c	8,5 ± 0,9b	8,5 ± 1,0bc
100	12,7 ± 1,5c	12,8 ± 4,4c	11 ± 3,5b	10 ± 1,8c

Os resultados foram expressos como Média ± DP. Médias seguidas de letras iguais dentro de um mesmo grupo representam ausência de diferença significativa pelo teste de Tukey (5%). SLiPa: Suplemento completo; SLi: Suplemento com óleo de linhaça; SPa: Suplemento com óleo de palma; SC: Sem suplemento.

MAHMUT e ABDURRAHMAN (1999) citam que a característica mais interessante da geléia real é a sua composição de ácidos graxos, pois são eles os principais componentes ativos para ação antimicrobiana. Ao contrário dos ácidos graxos da maioria dos animais e vegetais, que consistem principalmente de ácidos graxos de triacilgliceróis com 14 a 20 átomos de carbono, os ácidos graxos da geléia real são livres e de cadeia curta (8 a 10 de carbono), hidróxi ácidos graxos ou ácidos dicarboxílicos. O principal ácido graxo da geléia real é o 10-hidróxi-2-decenóico (10-HDA) e a quantidade deste ácido graxo na geléia real pura varia em relação à origem da geléia e em relação às características das abelhas. De acordo com XU *et al.* (2008), eles são considerados como os componentes ativos que contribuem para as propriedades nutricionais e terapêuticas da geléia real. Os autores relatam ainda que o 10-HDA presente na geléia pode ser um marcador diferencial de todos outros produtos de apicultura, por exemplo, o mel. BONVEHI e JORDA (1991), FUJIWARA *et al.* (1990) e ESHRAGHI e SEIFOLLAHI (2003) investigaram a atividade antibacteriana da geléia real e afirmam que a geléia real tem a capacidade de inibir microrganismos não só pelo fato de conter o 10-HDA, mas também pela sua composição protéica. Um dos peptídeos com propriedades antimicrobianas encontrado na geléia real é a roialisina, que é responsável pela proteção contra bactérias Gram positivas. Outros quatro polipeptídeos, nomeados Jelleine I a IV, foram também purificados de geléia real. Destes, os peptídeos Jelleine I e III apresentaram atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram negativas (FONTANA *et al.*, 2004).

4 Conclusão

Todas as amostras de geléia real foram capazes de inibir o crescimento do microrganismo *S. aureus*. Não foi observada diferença significativa entre a atividade antimicrobiana das geléias reais obtidas das abelhas suplementadas e da geléia real obtida de abelhas não suplementadas, na concentração de 100%. Por ser um produto natural, a geléia real poderia facilmente ser incorporada aos alimentos, visando maior conservação, com possibilidade de substituir conservantes químicos.

5 Referências

- BONVEHI, J. S.; JORDA, R. E. Organic acids influence on microbiological quality and bacteriostatic activity of royal jelly. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, v. 87, n. 8, p.256-259 1991.
- CRANE, E. The newer hive products: pollen, propolis, royal jelly, bee venom, bee brood. **Bees and beekeeping: science, practice and world resources**. Comstock Publishing Associales: UK, 1990.
- ESHRAGHI, S.; SEIFOLLAHI F. Antibacterial Effects of Royal Jelly on Different Strains of Bacteria. **Iranian Journal Public Health**, v. 32, p. 25-30, 2003.
- FONTANA, R.; MENDES, M. A.; SOUZA, B. M. DE; KONNO, K.; CÉSAR L. M. M.; MALASPINA, O.; PALMA, M. S. Jelleines: a family of antimicrobial peptides from the Royal Jelly of honeybees (*Apis mellifera*). **Peptides**, v. 25, p. 919-928, 2004.

FUJIWARA, S.; IMAI, J.; FUJIWARA, M.; YAESHIMA, T.; KAWASHIM, T; KOBAYASHI, K. A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 265, n. 19, p.11333-11337, 1990.

MAHMUT, GENÇ; ABDURRAHMAN, ASLAN. Determination of trans-10-hydroxy-2-decenoic acid content in pure royal jelly and royal jelly products by column liquid chromatography. **Journal of Chromatography**. v. 839, p. 265–268, 1999.

NASSIS, C. Z.; RODRIGUES, A. P.; CASSETTARI, A.; SANTA LÚCIA, A. M.; MELLO, F. R. L. H. Estudo "in vitro" da atividade antifúngica e antibacteriana da geléia real. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 69, p. 80-95, 1995.

NASSIS, C. Z.; SANTA LÚCIA, A. M.; CASSETTARI, A.; MELLO, F. L. R. L. H.; PIERALINI, C.; PASCHOAL, F. M.; PASCHOAL, L. H. C. Estudo in vivo da atividade antimicótica (dermatófitos) da geléia real. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.73, n.2, p. 167-170, 1998.

XU, J.-Z.; DING, T.; WU, B.; YANG, W.-Q.; ZHANG, X.-Y.; LIU Y.; SHEN, C.-Y.; JIANG, Y. Analysis of tetracycline residues in royal jelly by liquid chromatography –tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 868, p. 42–48, 2008.