



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

HÉLTER JOSÉ SILVA DE SOUZA

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE SEQUESTRADORA DE RADICAL LIVRE DA
PRÓPOLIS DE *TRIGONA SPINIPES* SMITH (ARAPUÁ)**

Recife
2022

HÉLTER JOSÉ SILVA DE SOUZA

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE SEQUESTRADORA DE RADICAL LIVRE DA
PRÓPOLIS DE *TRIGONA SPINIPES* SMITH (ARAPUÁ)**

Monografia apresentada a coordenação do curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador: Prof(a). Dr(a). Tania Maria Sarmiento da Silva

Recife

2022

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

**FOLHA DE APROVAÇÃO
HÉLTER JOSÉ SILVA DE SOUZA**

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE SEQUESTRADORA DE RADICAL LIVRE DA
PRÓPOLIS DE *TRIGONA SPINIPES* SMITH (ARAPUÁ)**

Aprovado em: _____ de _____ de _____.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Tania Maria Sarmiento da Silva
(UFRPE-Orientadora)

Profa. Dra. Telma Maria Guedes da Silva
(GOVERNO ESTADUAL DE PERNAMBUCO-Membro Titular)

Profa. Dra. Márcia Silva do Nascimento
(UFPE-Membro Titular)

Dedico este trabalho em primeiro lugar a Deus, pela sua infinita bondade em permitir que eu prosseguisse nesta caminhada, a toda minha família e amigos por me incentivarem a ser uma pessoa melhor e não desistir dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Certamente estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre essas palavras, mas elas podem estar certas de que fazem parte do meu pensamento e de minha gratidão.

À **Deus** que me deu saúde e forças para superar todos os momentos difíceis que me deparei ao longo da minha formação.

Aos **meus pais e irmãos**, que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava a minha formação.

Agradeço à **toda a minha família** por todo o amor, pelo apoio e dedicação.

Um agradecimento elevado a potência de 10 a minha orientadora **Profa. Dra. Tania Maria Sarmiento da Silva** por ser uma pesquisadora tão incrível, por me inspirar a ser um profissional melhor, por toda ajuda, paciência e ensinamentos com a qual guiaram o meu aprendizado.

À **Profa. Dra Márcia Silva do Nascimento** por ter confiado no meu potencial, pela indicação ao grupo de pesquisa Produtos Naturais: estudo químico, quimiotaxonomia e bioatividade.

À **Profa. Dra. Eva Mônica Sarmiento da Silva** pela coleta das amostras de geoprópolis.

À **Prof. Dr. Celso Amorim Câmara** pelo apoio.

À **Profa. Dra. Maria Elizabete Pereira dos Santos** pelas palavras de ânimos e por todo apoio demonstrado ao longo curso.

Gostaria de deixar o meu profundo agradecimento aos professores: **Dr. Renato Teixeira, Dra. Giselle dos Santos e Dra. Edenia Amaral** serem minha inspiração profissional.

A todos **os funcionários e professores da UFRPE** por ter me recebido tão bem e de forma tão carinhosa. Nunca esquecerei está linda casa que será sempre minha.

Ao **CENAPESQ/UFRPE**, pelo uso de suas instalações imprescindíveis à realização desta pesquisa.

Ao **CNPQ** pelo financiamento da pesquisa e pela bolsa de PIBIC.

A **Paulina** minha mentora que me guiou nas lições de vida e de amor.

Aos meus queridos colegas do **BIOFITO**, **Ayala Nara, Amanda Bispo, Catarina Soares, Girliane Regina, Telma Guedes, Maria Sarmiento, Laisla Andrade, Sonia**

Pereira, Rogelio Moreno (*in memoriam*) pelo companheirismo, conhecimentos compartilhados, apoio e ajuda nas horas difíceis, pelos cafés científicos, momentos de descontração e pela amizade.

Aos meus amigos de estudo, **Ana Beatriz, Alane Leite, Brenda Miranda, Carla Jasmine, Raiane Alves, Rebeca Araújo e Severino Neto**, de verdade eu quero que saibam que reconheço tudo que fizeram por mim, a força que incutiram no meu pensamento para não desistir e o conforto de saber que nunca estarei só e serei sempre capaz de tudo por maiores que sejam as dificuldades.

Aos meus amigos **Wagner Soares, Maria Eduarda Fago, Eronice Barbosa, Micheline Thais e Priscilla Bruna** pelo incentivo, por saber que posso contar sempre com você, por vibrar com as minhas conquistas e pela eterna amizade.

À **Gleybson Santos** por sua dedicação, sua paciência e sua parceria. Obrigado por estar em minha vida!

À dona **Lindaci** por terem me ajudado nesta caminhada, minha eterna gratidão.

Por último e não menos importante agradeço a **entropia**, pura energia em constante troca propagando e se emitindo infinitamente pelo universo.

A **todos** que de alguma forma, contribuíram na realização deste trabalho.

Só eu sei cada passo por mim dado nessa estrada esburacada que é a vida, passei coisas que até mesmo Deus duvida, fiquei triste, capiongo, aperreado, porém nunca me senti desmotivado, me agarrava sempre numa mão amiga, e de forças minha alma era munida pois do céu a voz de Deus dizia assim:

- Suba o queixo, meta os pés, confie em mim, vá pra luta que eu cuido das feridas.
(Bráulio Bessa).

RESUMO

A abelha sem ferrão *Trigona spinipes* é conhecida popularmente como arapuá sendo uma espécie generalista primordial no desempenho dos serviços ecossistêmicos, devido a polinização de algumas plantas agrícolas, atuando como uma espécie dominante nas redes de interação entre plantas e abelhas. A própolis, é uma mistura resinosa coletada de resinas vegetais, óleos essenciais, pólen, cera, açúcares e secreções salivares das abelhas. Este trabalho descreve o estudo químico de duas amostras de própolis da *Trigona spinipes* coletadas na Caatinga na região do Polo Petrolina-PE, nas áreas que compreende o Vale do São Francisco. O estudo químico dos extratos e frações foi realizado por Cromatografia a Líquido de Ultra eficiência acoplada com detectores de Arranjo de Diodo e Espectrômetro de Massas tipo quadrupolo e Tempo de Voo (UPLC-DAD-QTOF-MS/MS) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (CG/MS). A partir do estudo químico foi possível observar a presença de substâncias das classes de poliaminas, flavonoides, terpenos, esteroides e ácidos graxos. As duas amostras apresentaram similaridade na composição química. O estudo biológico com fenólicos totais, flavonoides e o radical DPPH mostrou que as própolis estudadas são fontes ricas de compostos bioativos com potencial antioxidante. A presença de Polifenólicos presentes na própolis sugerem à ação antioxidantes, sendo capazes de sequestrar radicais livres presentes no organismo atuando contra doenças e danos no corpo humano e protegem contra bactérias, vírus, fungos e apresenta atividade anti-inflamatória

Palavras-chave: UPLC-DAD-QTOF-MS/MS; Própolis; *Trigona Spinipes*; Antioxidante.

ABSTRACT

The stingless bee *Trigona spinipes* is popularly known as a primordial generalist species in the performance of ecosystem services, due to the speciesization of agricultural plants, as a dominant species in the interaction networks between plants and bees. Geopropolis, is a resin mixture collected from pro-resin resins, essential oils, pollen, wax, sugars and salivary secretions from bees. This work describes the chemical study of two samples of *Trigona spinipes* propolis collected in the Caatinga region of the Polo Petrolina-PE, in the areas that comprise the Vale de São Francisco. The chemical study of the extracts and fractions was carried out by Ultra Performance Liquid Chromatography coupled with Diode Array detectors and Quadrupole Time-Time Quadrupole Mass Spectrometer (UPLC-DAD-QTOF-MS/MS) and coupled Gas Chromatography a Mass Spectrometer (CG/MS). From the chemical study it was possible to observe the presence of substances from the classes of polyamines, flavonoids, terpenes, steroids and fatty acids. The two have similar chemical composition. The biological study with total phenolics, flavonoids and the DPPH radical showed that propolis are rich sources of bioactive compounds with antioxidant potential. The pro-anti-inflammatory action presents protection against bacteria, virus, fungi and anti-inflammatory activities.

Keywords: UPLC-DAD-QTOF-MS/MS; Propolis; *Trigona Spinipes*; Antioxidant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Abelha sem ferrão <i>Trigona spinipes</i>	20
Figura 2. UPLC-DAD (290nm) da amostra de própolis 1 (A) e cromatograma do íon pico base (B) obtido por MSE (UPLC-q-TOF/MSE) em modo negativo.....	31
Figura 3. UPLC-DAD (290 nm) da amostra 2 própolis (A) e cromatograma do íon pico base (B) obtido por MSE (UPLC-qTOF/MSE) em modo negativo.....	32
Figura 4. Núcleo dos principais flavonoides identificados nas amostras de própolis de arapuá.....	40
Figura 5. Proposta do mecanismo de fragmentação para os flavonoides.....	41
Figura 6. Proposta do mecanismo de fragmentação do composto N^1, N^5, N^{10} -tri-trans- p -coumaroil espermina representando um poliamina.	42
Figura 7. Proposta do mecanismo de fragmentação para os triterpenos.....	44
Figura 8. Proposta do mecanismo de fragmentação para as saponinas.	45
Figura 9. Proposta do mecanismo de fragmentação para os ácidos graxos.....	46
Figura 10. Cromatograma da fração hexânica da própolis 1 da Arapuá.	48
Figura 11. Cromatograma da fração hexânica da própolis 2 da Arapuá.	48

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Atividades antirradicalar dos extratos etanólicos das própolis51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação dos compostos de própolis 1 da abelha arapué por UPLC-QTOF-MS/MS	33
Tabela 2. Identificação dos compostos de própolis 2 da abelha arapué por UPLC-QTOF-MS/MS.....	37
Tabela 3. Identificação dos compostos de própolis 1 da fração hexânica arapué por CG/MS.....	49
Tabela 4. Identificação dos compostos de própolis 2 da fração hexânica arapué por CG/MS.....	49
Tabela 5. Teor de fenólicos totais e flavonoides nos extratos etanólicos das própolis.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CE ₅₀	Concentração Efetiva média
CG-MS	Cromatografia de gás acoplada ao espectro de massas
DAD	Detector com Arranjo de Diodos
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EAG	Equivalente de Ácido Gálico
FM	Fórmula molecular
Fr.	Fração
<i>m/z</i>	Relação carga/massa
TR	Tempo de retenção
UPLC	Cromatografia a Líquido de Ultra eficiência
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

OBS: As abreviaturas e símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
2.1 Abelhas nativas.....	19
2.2 Abelha arapuá (<i>Trigona spinipes</i>)	20
2.3 Geoprópolis e própolis	21
2.4 Composição química e propriedades farmacológicas da própolis	22
3 OBJETIVOS	25
3. 1 Geral	25
3. 2 Específicos.....	25
4 METODOLOGIA	26
4.1 Obtenção das amostras	26
4.2 Obtenção dos extratos etanólicos	26
4.2.1 Extração em fase sólida (SPE C-18).....	26
4.2.2 Partição líquido-líquido.....	26
4.4 Análises por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS	27
4.5 Análises por CG-MS	27
4.6 Determinação do teor de fenólicos totais	28
4.7 Determinação do teor de flavonoides	28
4.8 Teste com o radical livre DPPH•	29
4.9 Análises estatísticas.....	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
5.1 Análises por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS	30
5.1.1 Flavonoides.....	38
5.1.2 Poliaminas	42
5.1.3 Terpenos.....	43

5.1.4 Saponinas	44
5.1.5 Ácidos graxos.....	45
5.2 Análise por Cromatografia gasosa espectrometria de massas (CG/MS) das própolis	47
5.3 Teor de fenólicos, flavonoides e atividade antirradicalar dos extratos etanólicos da própolis de <i>Trigona spinipes</i>	50
6 CONCLUSÃO	52
7 REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

O Bioma Caatinga é exclusivamente encontrado no Brasil, com predominância na Região Nordeste, presente também em um pequeno trecho da Região Sudeste, que compreende o norte do Estado de Minas Gerais, onde domina o clima semiárido (CAVALCANTI, 2009; DA SILVA LUCENA, 2020). Em comparação entre os biomas brasileiros, a Caatinga é indubitavelmente, o mais subestimado e pouco explorado botanicamente em todo território. Além disso, sua vegetação foi modificada, devido ao extrativismo e a agropecuária (BORGES, 2017). Apesar de estar, realmente, bastante alterada, a Caatinga abriga uma grande variedade de tipos de plantas com elevado número de espécies, além de vegetação remanescente, ainda bem preservada, que incluem um número expressivo de táxons raros e endêmicos (SOUZA, 2015). Neste Bioma, a fauna apícola está representada por 187 espécies de abelhas, distribuídas em 77 gêneros. Trata-se de uma baixa diversidade de espécies quando comparada com outros ecossistemas. No entanto, nela predominam espécies endêmicas e raras, sendo os meliponíneos, abelhas nativas sem ferrão, um dos grupos mais representativos (NOGUEIRA-NETO, 1997; SANTOS, 2010).

As abelhas sem ferrão, são chamadas de abelhas indígenas porque foram criadas racionalmente pela primeira vez pelos índios, cuja atividade é chamada de meliponicultura. Elas são conhecidas como abelhas sem ferrão, pois possuem este instrumento de defesa atrofiado. Já a denominação ‘meliponíneos’ foi gerada a partir do nome de sua subfamília, Meliponinae (NOGUEIRA-NETO, 1997; NOGUEIRA-NETO, 1970). Dessa forma, assim são classificadas taxonomicamente: Reino – Animal; Filo – Arthropoda; Classe – Insecta; Ordem – Hymenoptera; Subordem – Apoicrita; Superfamília – Apoidea; Família – Apidae; Subfamília – Meliponinae (KERR, 1996).

A subfamília Meliponinae pode ser dividida em duas tribos: Meliponini e Trigonini, essa divisão ocorre tanto por aspectos morfológicos como também pela origem das rainhas. A tribo Meliponini inclui aproximadamente 26 espécies e numerosas subespécies, todas pertencentes ao gênero *Melipona* são exclusivamente neotropicais e 20 espécies estão presentes no Brasil. Os Trigonini constituem uma tribo muito diversificada com vários gêneros, entre eles: *Lestrimelitta*, *Hypotrigona*, *Cephalotrigona*, *Oxytrigona*, *Schwarziana*, *Scaura*, *Plebeia*, *Partamona*, *Paratrigona*,

Scaptotrigona, *Nannotrigona*, *Tetragonisca*, *Trigona*, *Geotrigona*, *Frieseomelitta*, *Tetragona* (NOGUEIRA-NETO, 1997; MOURE, 1961; IMPERATRIZ-FONSECA, 2006). Essas abelhas estão distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo e ao todo, somam aproximadamente 400 espécies, das quais quase a metade está presente no Brasil. Na Caatinga, encontram-se 11 espécies, sendo 9 encontradas na região do polo Petrolina -PE/Juazeiro-BA (RIBEIRO, 2022).

A espécie *Trigona spinipes* pertence a tribo Trigonini, popularmente conhecida como “abelha cachorro”, “irapuã” ou “arapuá”, é considerada generalista, pois possui o hábito de polinizar uma grande quantidade de espécies vegetais, consequentemente auxiliam na recuperação de ambientes degradados devido ao seu serviço de polinização. Essas abelhas costumam ser uma das primeiras espécies sem ferrão a se instalar na área, realizando a polinização das plantas locais, sendo primordiais no desempenho dos serviços ecossistêmicos devido a polinização de algumas plantas agrícolas. A *Trigona spinipes* é apontada como uma espécie dominante nas redes de interação entre plantas e abelhas, porque atuam como importantes conectores de subconjuntos de espécies que, de outra forma, não seriam conectados, caracterizando-as como um agente polinizador efetivo em áreas, que geralmente apresentam baixa diversidade de vetores animais responsável pela transferência de pólen (ALISSON, 2015; PINIARO, 2007; GIANNINI, 2015; JAFFÉ 2015).

A abelha arapuá, apesar de ser importante polinizadora, é envolta em polêmicas pois, frequentemente são consideradas como pragas, por possuir o hábito de destruir botões florais de plantas cultivadas, para extração de resina ou néctar. Mas, este comportamento acontece em baixa escala quando na área cultivada há diversidade vegetal suficiente, possibilitando assim que ela possa coletar de outras fontes. Sua função polinizadora é extremamente importante para algumas culturas; porém, em locais onde existe monocultura ou pouquíssimas plantas melíferas e resinosas, ela não vê uma alternativa para conseguir os recursos que necessita (ALMEIDA, 1988; GIANNINI, 2015; JAFFÉ 2015).

Os meliponíneos apresentam uma gama de produtos e subprodutos com potencial econômico agregado, como o mel, cera ou batume, pólen e a geoprópolis/própolis, além da importância ambiental em relação a serviços ecossistêmicos (BALLIVIÁN, 2008). Dentre os subprodutos das abelhas nativas podemos destacar a própolis, a qual é uma mistura complexa resinosa, produzida por esses insetos a

partir da coleta de resinas vegetais, óleos essenciais, pólen, cera e açúcares, sendo utilizada na construção e calafetação da colmeia (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Estudos demonstraram que, a composição química da geoprópolis/própolis está diretamente relacionada às espécies botânicas coletadas pelas abelhas, localização, variedade genética da rainha, época da colheita ou simplesmente comparando com outra colmeia (PARK, et al., 2002; ROCHA et al., 2003; SOUSA et al., 2007; SANTISTEBAN, et al., 2019). Nas diversas classes de substâncias encontradas na geoprópolis/própolis, podemos destacar os fenólicos, substâncias que são capazes de sequestrar radicais livres presentes no organismo e são considerados bons agentes antioxidantes (SILVA et al., 2013).

Os estudos dos produtos meliponícolas mostraram que importantes constituintes químicos da geoprópolis/própolis são da classe dos fenólicos (LINS, 2003; SILVA, 2020). O aprofundamento com os estudos sobre os compostos fenólicos de própolis pode ser uma alternativa para o combate de doenças que envolvem o sequestro de radicais livres no organismo, visto que de modo geral, tais substâncias são inibidores dos processos de peroxidação e de envelhecimento dos tecidos, desse modo protege contra doenças degenerativas, por exemplo, a aterosclerose. (CAMPOS et al., 1997; DEVASAGAYAM et al., 1997; LUSTOSA et al., 2008; WILLIAMS; et al., 2004).

Este trabalho é uma continuação do estudo químico que vem sendo desenvolvido pelo grupo de pesquisa: Produtos Naturais: estudo químico, quimiotaxonomia e bioatividade, do laboratório de Bioprospecção Fitoquímica (UFRPE), os produtos: pólen, mel, própolis e geoprópolis (SOUZA et al., 2013; CALDAS et al., 2019; CABRERA, et al., 2021; SANTISTEBAN, et al., 2019). No presente trabalho foi analisado o perfil químico de amostras da própolis de arapuá por Cromatografia Líquida de Ultra eficiência acoplada com detectores de Arranjo de Diodo e Espectrômetro de Massas tipo quadrupolo e Tempo de Voo (UPLC-DAD-QTOF-MS/MS) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (CG/MS) e avaliar a atividade antirradicalar com DPPH.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Abelhas nativas

A criação de abelhas no Brasil representa uma importante fonte de renda complementar para muitas famílias de pequenos e médios produtores rurais. O País apresenta um grande potencial para exploração dos produtos das abelhas em função de sua vasta biodiversidade floral, englobando vários biomas com grande diversidade de espécies vegetais (AGUIAR et al., 2016). Além disso, suas proporções continentais e riquezas ecossistêmicas abriga cerca de $\frac{1}{4}$ das espécies de abelhas existentes (aproximadamente 5.000 espécies) (SANTOS, 2002). Entre os vários insetos sociais, as abelhas se destacam devido a grande quantidade de espécies e por sua importância na polinização entomófila visto que, um terço da produção mundial de sementes depende da visita de animais responsáveis pelo serviço de polinização (PINIARO, 2007).

As abelhas sem ferrão desempenham importante papel na manutenção da Caatinga devido a polinização das flores (KEER, 1997). As abelhas são responsáveis pela polinização de até 90% de muitas espécies vegetais, preservando a diversidade de plantas floríferas e assegurando a produção mundial dos alimentos (KERR et al., 1996) o que demonstra a importância da preservação de espécies nativas sem ferrão (FREITAS et al., 2009). Há evidências de que a inserção de colônias de abelhas sem ferrão em áreas agrícolas tem efeito positivo na produção de café, canola, goiaba, maçã, maracujá, pepino e dendê, entre outros cultivos. No morango, a polinização pela abelha irai (*Nannotrigona testaceicornis*) diminui o grau de deformação das frutas (ZANON, 2020). Um estudo revelou alta frequência da uruçú-nordestina (*Melipona scutellaris*) na polinização de laranjas. Neste sentido, as abelhas nativas sem ferrão enfrentam um paradoxo: importantes para o cultivo agrícola e ameaçadas pela própria agricultura. O principal motivo do desaparecimento das abelhas é o nosso sistema de produção de alimentos, pois a supressão vegetal afeta o seu *habitat* natural. Além disso, a homogeneização da paisagem não propicia a dieta diversificada que os insetos precisam e ainda existe o uso abusivo de agrotóxicos (KEER, 1996; ZANON, 2020).

As abelhas sociais nativas do Brasil, chamadas de meliponíneos cujos componentes são conhecidos popularmente como abelhas indígenas “sem ferrão”, por

possuírem o ferrão atrofiado (vestigial), perdendo a capacidade de ferroar, são abelhas pantropicais, ocorrendo somente nas regiões tropicais e subtropicais, e eusociais, espécies que vivem em colônias permanentes com divisões de castas. Estima-se que existam mais de 300 espécies de meliponíneos (NOGUEIRA-NETO, 1997; KERR, 1996; MICHENER 1974).

2.2 Abelha arapuá (*Trigona spinipes*)

O gênero *Trigona* apresenta abelhas geralmente pequenas (2-11 mm) e a distribuição das espécies está associada a características climáticas e florísticas de cada região, e os seus produtos são mel, cera, própolis e pólen. (MOURE, J 1961; IMPERATRIZ-FONSECA, 2006; NOGUEIRA-NETO, 1997).

A *Trigona spinipes* Smith, arapuá, abelha cachorro ou irapuá (Figura 1) como é popularmente conhecida. São consideradas extremamente abundantes e estão presentes em 11 estados brasileiros, inclusive Bahia e Pernambuco (RIBEIRO, 2010).

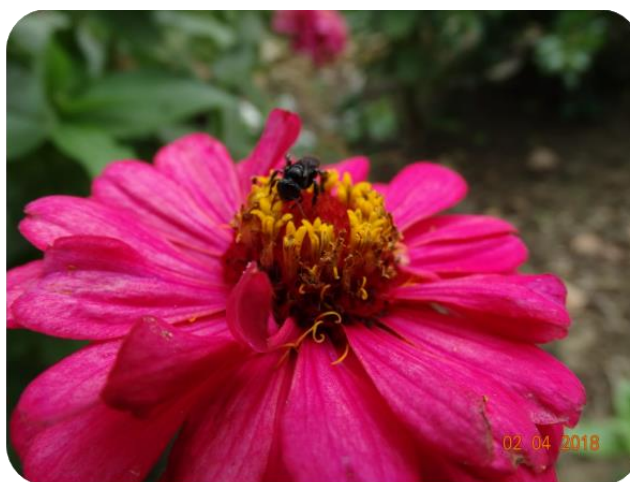


Figura 1. Abelha sem ferrão *Trigona spinipes*. Foto: Tania Sarmento

As arapuás são abelhas agressivas (para o homem e outros insetos), podendo atacar violentamente outras espécies de abelhas, como as abelhas melíferas africanizadas (*Apis mellifera*) e mamangavas (*Xylocopa sp.*), para defender as flores onde estão coletando recursos. Essa espécie é bastante generalista pela quantidade de espécies que elas polinizam em buscas de alimentos, em vista disso, temos uma ampla distribuição e grande população dos ninhos em plantas ou até mesmo em ambientes urbanos (RIBEIRO, 2010; MALERBO-SOUZA, 2000).

O número de espécies vegetais visitadas por abelhas é muito diversificado e dependente da abundância destas plantas na região e ou em áreas próximas das colônias (ANDRADE et al., 2019; SANTOS et al., 2020). Dentre as plantas cultivadas, foram observadas nas flores de abacate (*Persea americana*); (MALERBO-SOUZA et al., 2000), pêssigo (*Prunus persica*); (MOTA et al., 2002), abóbora caipira (*Curcubita mixta*), girassol (*Helianthus annus*), (VASCONCELOS et al., 2008), laranja (*Citrus sinensis*), (MALERBO-SOUZA et al., 2003), entre outras.

2.3 Geoprópolis e própolis

O nome própolis vem do grego e quer dizer defesa da cidade ou colméia, esse subproduto resinoso, produzido pelas abelhas, é utilizado para fechar as frestas da colméia, paredes internas e proteger de invasores, além de ser empregado na assésia evitando o crescimento de microorganismos indesejáveis no interior da colméia. (GHISALBERT, 1979; BANKOVA, 2000; VIT-OLIVIER, 1998).

A geoprópolis e própolis são produtos resinosos produzidos pelas abelhas, a partir da coleta de resinas vegetais, óleos essenciais, pólen, cera e açúcares, sendo utilizado na construção e calafetação da colmeia (NOGUEIRA-NETO, 1997). A geoprópolis possui a presença de terra, além dessa mistura complexa já citada. Vários estudos registraram que a atividade biológica da própolis e geoprópolis depende da composição química, a qual também depende da diversidade geográfica e da variedade genética da rainha (LUTOSA et al., 2008). De modo geral, contém 50 - 60% de resinas e bálsamos, 30 - 40% de ceras, 5 - 10% de óleos essenciais, 5% de grão de pólen, além de microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês e pequenas quantidades de vitaminas B1, B2, B6, C e E (LUSTOSA et al., 2008). A coloração varia de marrom escuro passando a uma tonalidade esverdeada até o marrom avermelhado, dependendo de sua procedência, possui odor característico que pode variar de uma amostra para outra (MARCUCCI, 1996).

No Brasil existem diferentes tipos de geoprópolis e própolis. A própolis verde, oriunda do cerrado brasileiro, é produzida principalmente a partir da espécie *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae), popularmente conhecida como “alecrim-do-campo” ou “vassourinha” (FUNARI et al., 2007). A própolis vermelha, encontrada na Mata Atlântica da região Nordeste do Brasil (estados Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco e Paraíba), tem como fonte botânica principal a *Dalbergia ecas-*

tophyllum (L) Taub. (Fabaceae), popularmente conhecida por “rabo-de-bugio” (SILVA et al., 2008). A própolis vermelha brasileira e a contribuição relativa de cada espécie para a composição varia regionalmente e possivelmente sazonalmente, resultando em dois tipos diferentes de própolis vermelha brasileira (LÓPEZ et al., 2014).

2.4 Composição química e propriedades farmacológicas da própolis

No Brasil, o interesse pela própolis aconteceu somente na década de 80 com o trabalho pioneiro de Ernesto Ulrich Breyer, demonstrando em seu livro, "Abelhas e saúde", as propriedades terapêuticas da própolis e sua utilização como antibiótico natural (LIMA, 2006).

A composição química é bastante complexa e variada, o conhecimento da origem botânica da própolis é importante para os apicultores e meliponicultores garantirem que as abelhas tenham plantas específicas em seu alcance de vôo, pois a determinação das classes de compostos químicos de seus produtos com base na planta é uma fonte importante para a atividade biológica associada ao seu papel benéfico (FREITAS, 2008).

O papel benéfico atrelado a atividade biológica da própolis está diretamente relacionado com a presença de substâncias específicas e, dada a possibilidade de conter diferentes componentes de acordo com a região de coleta, sendo comum encontrar própolis com diferentes atividades biológicas como: antimicrobiana, cicatrizante, anestésica e antiinflamatória (GHISALBERTI 1979). Alguns componentes estão presentes em todas as amostras de própolis, enquanto outros ocorrem somente em própolis derivadas de espécies particulares de plantas (VARGAS et al., 2004).

A composição química da geoprópolis e própolis inclui flavonóides (como a galangina, quercetina, pinocembrina e kaempferol), ácidos aromáticos e ésteres, aldeídos e cetonas, terpenóides e fenilpropanóides (como os ácidos caféico e clorogênico), esteróides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos e vários outros compostos em pequenas quantidades (LUSTOSA, 2008).

Tais atividades farmacológicas são atribuídas à composição rica em substâncias como aminoácidos, proteínas, enzimas, carotenoides, ácidos orgânicos e polifenóis, especialmente flavonoides e ácidos fenólicos (ÁVILA et al., 2019; CHUTTONG et al., 2016). Os compostos fenólicos são destacados porque são am-

plamente investigados como as substâncias responsáveis pelos efeitos capazes de inibir ou reduzir a formação de radicais livres (LIU et al., 2019).

A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do nosso metabolismo e, assim, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica (BARREIROS et al., 2006), porém quando produzidos em excesso apresenta efeitos deletérios, tais como danos ao DNA, proteínas e organelas celulares, como mitocôndrias e membranas, provocando alterações na estrutura e funções celulares (HALLIWELL et al., 1992) e, dessa forma, se encontram envolvidos em diversas patologias a exemplo de câncer, envelhecimento precoce, doenças cardiovasculares, degenerativas e neurológicas, choque hemorrágico, catarata, disfunções cognitivas, entre outras (BIANCHI & ANTUNES, 1999; SOARES, 2002; SOUSA et al., 2007). O estresse oxidativo é comumente definido como o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e radicais de enxofre, entre outras, e a remoção destas pelos sistemas de defesa antioxidante e, também, pelo reparo enzimático das biomoléculas lesadas (RAHMAN et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2007).

Os antioxidantes atuam no controle dos efeitos nocivos dos processos oxidativos impedindo ou diminuindo a formação dos radicais livres (DEGÁSPARI et al., 2004; SOUSA et al., 2007). Os antioxidantes naturais possuem a capacidade de melhorar a qualidade e a estabilidade dos alimentos, agirem como nutracêuticos e proporcionar, ainda, benefícios adicionais à saúde dos consumidores (CAETANO, 2008 apud SOUZA, 2016). A eficácia da ação antioxidante dos componentes bioativos, depende de sua estrutura química e da concentração destes, cujo teor é amplamente influenciado por fatores genéticos, condições ambientais, grau de maturação, variedade da planta, entre outros (CAMPOS, 2008 apud SOUZA, 2016; MELO, 2009 apud SOUZA, 2016).

A ocorrência de diversas doenças atualmente vem sendo relacionada ao aumento e desequilíbrio nos níveis de radicais livres no organismo. Com o aumento significativo desta ocorrência busca-se produtos de origem natural com ação antioxidante entre os quais se destacam aqueles que apresentam em sua composição compostos fenólicos (DEVASAGAYAM et al., 2004; WILLIAMS et al., 2004). Dentre as atividades terapêuticas que os produtos meliponícolas apresentam, uma que se destaca é a atividade antioxidante, geralmente associada com a presença dos com-

postos polifenólicos, considerados como protetores potenciais contra efeitos nocivos dos radicais livres, sendo, de um modo geral, inibidores dos processos de peroxidação e de envelhecimento dos tecidos e proteção contra doenças degenerativas como a aterosclerose (CAMPOS, 1997). Estes resultados sugerem a necessidade de estudos mais aprofundados da própolis para identificar outras possíveis atividades biológicas, bem como caracterizar e padronizar quimicamente as frações polares e apolares, gerando informações de confiança que possam agregar valor ao produto.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral:

Avaliar e identificar os constituintes químicos da própolis de arapuá (*Trigona spinipes*), bem como avaliar seu potencial como sequestrador de radicais livres.

3.2 Específicos

- Analisar o teor de fenólicos e flavonoides da própolis de arapuá.
- Avaliar o potencial antioxidante com o radical DPPH do extrato etanólico da própolis de arapuá;
- Analisar o perfil químico e identificação estrutural dos constituintes químicos da própolis de arapuá.

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção das amostras

Duas amostras das própolis marrom (Identificadas como própolis 1 e própolis 2) foram coletadas na região Nordeste do Brasil, na área que compreende o Vale do São Francisco, nos estados de Pernambuco e Bahia, e estão cadastradas no SISGEN (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado).

4.2 Obtenção dos extratos etanólicos

As amostras foram previamente pulverizadas e submetidas à extração com massa inicial de 50,6674g para própolis 1 e 54,4539g para própolis 2, foi adicionado 200,0 mL de etanol (EtOH) sob agitação em aparelho ultrassom por 30 minutos. Em seguida ficou em repouso para decantar. Após filtração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida à 40°C, para remoção do solvente orgânico. Esse procedimento foi repetido várias vezes até a obtenção da maior quantidade de extrato etanólico possível, foram obtidos de 21,0264g para própolis 1 e 18,5603g para própolis 2.

4.2.1 Extração em fase sólida (SPE C-18)

Foram utilizados 30mg do extrato etanólico para a extração em cartuchos de SPE C-18. O cartucho de SPE foi condicionado com: 15µL H₂O acidificada pH 2, com ácido clorídrico, 15µL MeOH e 15µL de AcOEt e, posteriormente, aplicou-se no cartucho a amostra solubilizada com 50µL de MeOH, com 0,1% de ácido clorídrico e eluiu-se em 15µL H₂O, 15µL MeOH e 15µL de AcOEt. A fração AcOEt foi analisada por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS.

4.2.2 Partição líquido-líquido

O extrato etanólico foi dissolvido em 100 mL de metanol/água (1:1) e, a seguir, foi submetido a sucessivas extrações com hexano (3x 50mL) e acetato de etila (3x 50 mL). As fases obtidas foram evaporadas sob pressão reduzida em eva-

porador rotativo a 40°C, obtendo-se as frações hexânica, acetato de etila e metanol/água. Das Frações obtidas a Hexânica foi utilizada para análise do CG/MS.

4.4 Análises por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS

As separações cromatográficas para a fração AcOEt das duas amostras de própolis foram realizadas utilizando uma coluna Acquity BEH C18 (2,1 x 50 mm, 1,7 µm, Waters, EUA) a 40°C. A fase móvel binária consistiu em água com 0,1% de ácido fórmico (fase móvel A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (fase móvel B). O fluxo foi de 0,4 mL/min e o volume de injeção foi de 5,0 µL. O gradiente de eluição utilizado foi: 0,0-8,0 min 10%-25% de B; 8,0-20,0 min, 25%-95% de B e 20-24, 95-100% de B. O espectrômetro de massas foi operado em modo negativo de ionização (ESI⁻) no modo sensibilidade. A detecção foi realizada no modo centroide MS^E em uma faixa de massa escolhida entre os valores de m/z 50-1200 Da. Todas as análises foram realizadas utilizando o lockspray para garantir a precisão e reprodutibilidade dos valores de massas. Leucina-encefalina (10 ng mL⁻¹) foi utilizado como padrão/referência para calibração. A aquisição e a análise dos dados foram realizadas utilizando o software Waters MassLynx.

4.5 Análises por CG-MS

As frações hexânicas da partição das duas amostras de própolis foram analisadas em um cromatógrafo gasoso CG 2010 (Shimadzu Co.) acoplado a um espectrômetro de massas QP 5000 (Shimadzu Co.). A coluna capilar usada foi a CBP5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) contendo 5% de fenil em HMDS. O detector utilizado foi um quadrupolo operando no modo scanning (m/z 40-400). A programação de temperatura foi de 50 °C (0,3 min) a 285 °C (15 min), com incremento de 6 °C/min. As temperaturas do injetor e detector foram de 260 e 250 °C, respectivamente. As amostras (0,6 µL) foram injetadas por um injetor automático AOC-17, com injeção no modo "splitless" (tempo de abertura da válvula de 0,5 min). A integração foi feita através do software específico do equipamento (QP5000 software).

4.6 Determinação do teor de fenólicos totais

O teor de fenólicos totais dos extratos etanólicos das duas amostras de própolis foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, empregando-se o ácido gálico como composto fenólico padrão. Inicialmente o extrato foi solubilizado em EtOH (5mg/mL). Uma alíquota de 50µL da solução do extrato foi transferida para um eppendorf, adicionando-se 20µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 910µL de água por 1 min. Em seguida, 60µL de Na₂CO₃ (15%) foram acrescentados a mistura e agitados por 30 segundos. Após duas horas, a absorbância de cada amostra foi medida por espectrofotométrico de Elisa UV-Vis em 760 nm, empregando-se placas de 96 poços. As análises foram realizadas em triplicata e o teor de fenólicos totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com soluções padrão de ácido gálico em várias concentrações (1 a 20 µg/mL) e expressos como miligrama equivalente ao ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g). A equação da curva de calibração da quercetina foi: $y = 0,0642x + 0,0834$ com o coeficiente de correlação de $R^2 = 0,9998$, onde x é a concentração de ácido gálico e Y é a absorbância a 760 nm.

4.7 Determinação do teor de flavonoides

A determinação de flavonoides seguiu a metodologia proposta por Woisky e Salatino (1998) com modificações, empregando-se a quercetina como padrão. Na reação, o íon alumínio (Al³⁺) complexa-se com as moléculas de flavonoides da amostra, estabelecendo o complexo estável flavonoide-Al³⁺ de coloração amarela cuja intensidade é proporcional à concentração de flavonoide presente na amostra. Esta complexação promove, em espectroscopia, deslocamento batocrômico e intensificação das absorções, podendo ser quantificado sem sofrer influência de outros compostos fenólicos presentes na amostra. Inicialmente foram pipetados 100 µL de cada amostra testada, na concentração de 5,0 mg/mL cada, em eppendorf de 1,0 mL, individualmente. Após a adição do extrato, adicionou-se 400 µL de MeOH e 500 µL cloreto de alumínio 5% m/v em metanol, resultando na concentração final de 100 µg/mL para as amostras. Aguardou-se 30 minutos no escuro e a leitura foi realizada em espectrofotômetro ELISA UV-Vis em 425 nm. As análises foram realizadas em triplicata e o teor de flavonoides foi determinado por interpolação da absorbância das

amostras contra uma curva de calibração construída com soluções do padrão de quercetina em várias concentrações (2,5 a 20,0 µg/mL) e expressos como miligrama equivalente a quercetina por grama de extrato (mg EQ/g), considerando-se o erro padrão da média (E. P. M.). A equação da curva de calibração da quercetina foi: $y = 0,0145x + 0,966$, com o coeficiente de correlação de $R^2 = 0,9992$, onde x é a concentração de quercetina e Y é a absorbância a 425 nm.

4.8 Teste com o radical livre DPPH•

A atividade antiradicalar foi determinada através da capacidade dos compostos presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH• (1,1-difenil-2-picrilidrazil). Baseia-se no princípio de que o radical DPPH, originalmente de cor violeta, aceita um elétron (ou um radical hidrogênio) de um componente antioxidante para se tornar uma molécula reduzida, DPPH-H (hidrazina) momento este no qual adquire coloração amarela. Na forma de radical, o DPPH possui uma absorção característica a 517nm, que desaparece à medida que ele vai sendo reduzido por um elétron doado pelo composto antioxidante (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995) seguindo a metodologia descrita por Silva et al. (2006) com pequenas modificações. As amostras dos extratos e frações foram preparadas a 1,0 e 5,0 mg/mL em etanol. Através de triagem preliminar, quantidades apropriadas das amostras foram transferidas para eppendorfs de 500 µL, em seguida foi adicionado 450,0 µL da solução de DPPH• (23,6 µg/mL em EtOH) e o volume foi completado para 500,0 µL com EtOH, a fim de obter concentrações finais que variaram de 1,0 a 5,0 µg/mL. A mistura ficou sob agitação em aparelho ultrassônico por 30 minutos, ausente de luz. Uma alíquota da mistura (300 µL) foi transferida para placa de 96 poços, usando como branco EtOH e a absorbância foi detectada em espectrofotômetro Elisa UV-Vis a 517 nm. Todas as determinações foram realizadas em quadruplicada. Como controle positivo foi empregado o ácido ascórbico.

4.9 Análises estatísticas

Os resultados dos testes foram obtidos em triplicata e expressos como média ± desvio padrão da média. Foi utilizado o programa GraphPad Prism 7.0. (GraphPad ® Software DEMO, San Diego, Califórnia, EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análises por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS

A análise dos constituintes químicos das duas amostras de própolis da abelha Arapuá foram realizadas das frações SPE acetato de etila (AcOEt). por Cromatografia Líquida de Ultra eficiência acoplada com detectores de Arranjo de Diodo e Espectrômetro de Massas tipo quadrupolo e Tempo de Voo (UPLC-DAD-qTOF-MS/MS) Foram realizadas análises dos espectros de UV, espectros de massas e comparação com dados da literatura. Os compostos foram tentativamente identificados como poliaminas, flavonoides, terpenos, saponinas e ácidos graxos. As Figuras 2 e 3 mostram os cromatogramas do íon pico base obtido por MS^E em modo negativo. Nas Tabelas 1 e 2 encontram-se os dados obtidos nos cromatogramas das amostras.

As duas amostras apresentaram similaridades e diferença em relação a composição química, sendo mais evidente a presença de poliaminas na amostra da própolis 1 e fenólicos na amostra 2. Em relação a presença de fenólicos verificou-se a semelhança com outras amostras da geoprópolis de jandaíra coletada na Paraíba, outra região semiárida do Nordeste do Brasil (SOUZA et al., 2013; SOUZA et al., 2014). A similaridade deve-se provavelmente, a mesma origem botânica do vegetal coletado pelas abelhas (SILVA et al., 2006). Todavia, estudos adicionais serão necessários para identificar as espécies botânicas visitadas pelas abelhas para formar a própolis ou geoprópolis.

Em termos de composição química, os produtos produzidos por abelhas nativas (Meliponinae) são menos conhecidos quando comparados aos produzidos por abelhas *Apis mellifera* (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005). Assim, a identificação de marcadores químicos é importante na tipificação do tipo de própolis.

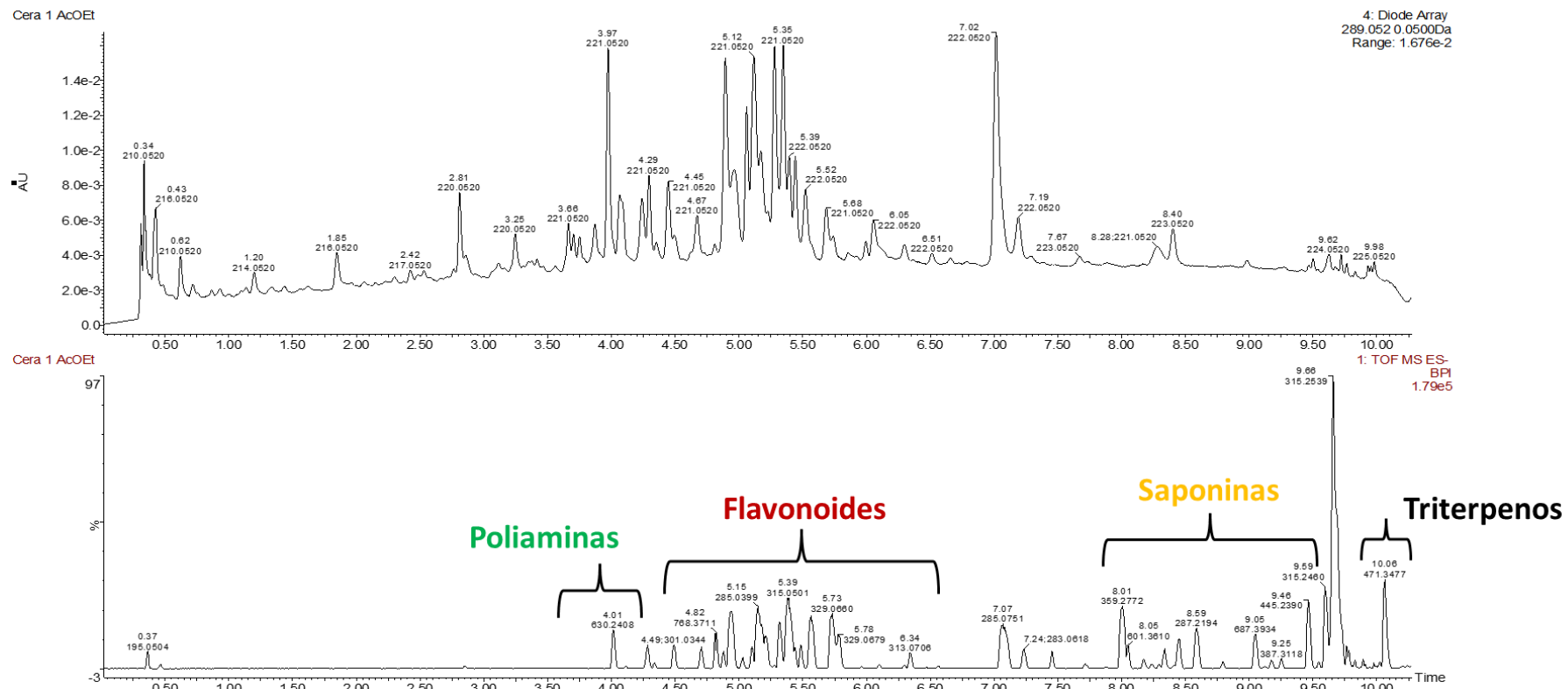


Figura 2. UPLC-DAD (290nm) da amostra de própolis 1 (A) e cromatograma do íon pico base (B) obtido por MSE (UPLC-q-TOF/MSE) em modo negativo.

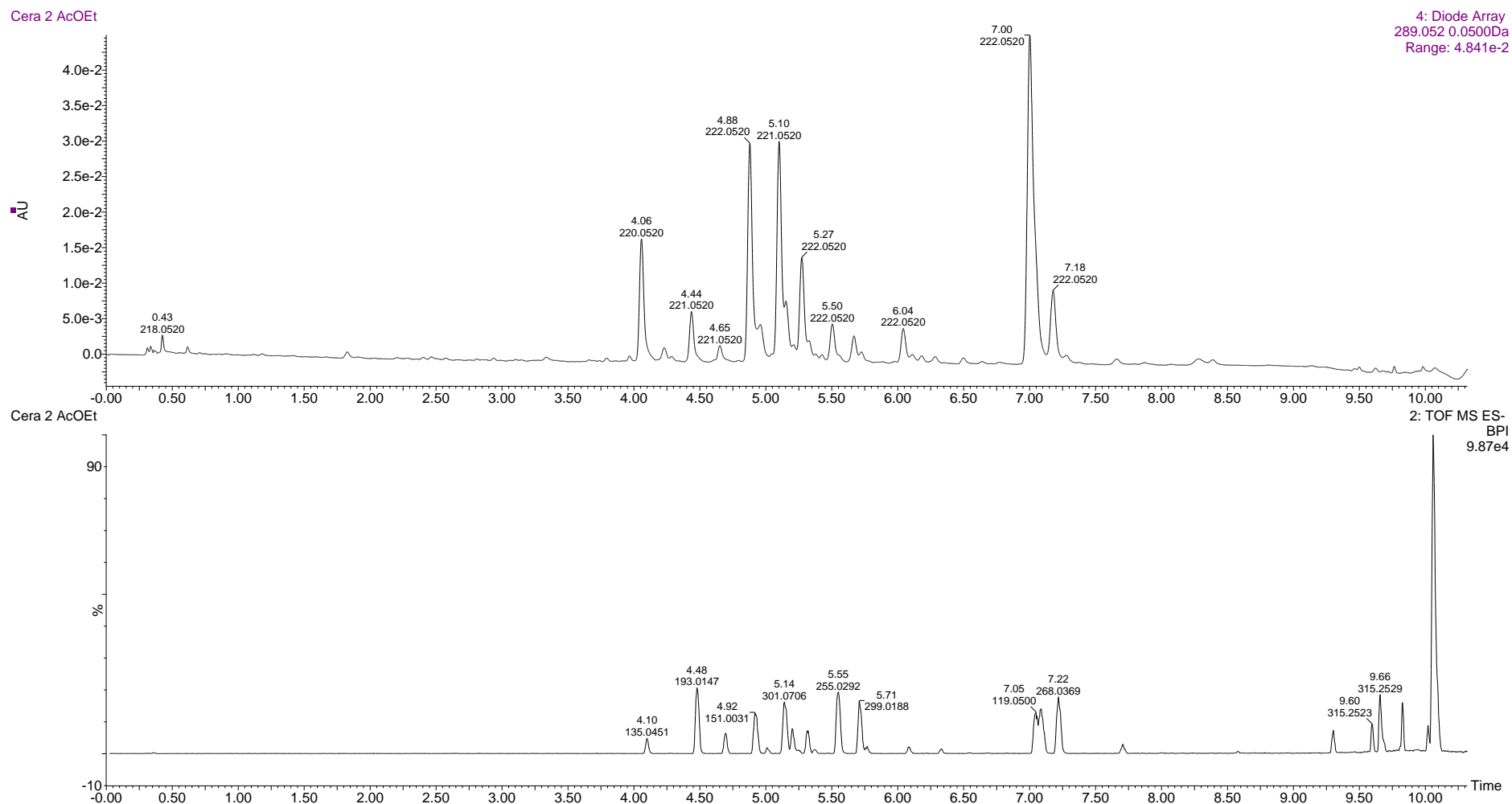


Figura 3. UPLC-DAD (290 nm) da amostra 2 própolis (A) e cromatograma do íon pico base (B) obtido por MSE (UPLC-qTOF/MSE) em modo negativo.

Tabela 1. Identificação dos compostos de própolis 1 da abelha arapuá por UPLC-QTOF-MS/MS

	TR (min)	λ máx. (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	[M-H] ⁻ (m/z) Calculado	Erro (ppm)	MS/MS	Tentativa de identificação
1	1,02	270	169,2128	169,2114	8,2		Ácido gálico
2	4,00	320	630,2457	630,2457	0,0	494,1918 [M-2H-cafeoil] ⁻ ; 468,2115 [M-2H-cafeoil] ⁻	N ¹ ,N ⁵ ,N ¹⁰ -tricafeoil espermidina
3	4,10	288	287,0556	287,0561	-1,7	135,0443 [M-H-anel A] ⁻ ; 151,008 [M-H-anel B] ⁻	Tetrahidroxi-flavanona
4	4,28	350	301,0354	301,0354	0,0	193,0141 [M-H-anel B] ⁻ ; 151,0018 [M-H-anel A] ⁻	Quercetina
5	4,70	350	315,0504	315,0510	-1,9	300,0273 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 271,0239 [M-H-CO] ⁻	Isorhamnetina
6	4,82		768,3735				Não identificado
7	4,92	290	271,0605	271,0612	-2,5	151,0035 [M-H-anel A] ⁻ ; 119,0501[M-H-anel B] ⁻	Naringenina
8	5,00	345	269,0450	269,0455	-1,8		Trihidroxi-flavona
9	5,14	280	301,0711	301,0718	-2,3	164,0113 [M-H-anel A-parte C] ⁻ ; 134,0368	Trihidroxi-metoxiflavona

						[M-H-anel B] ⁻ ; 151,0030 [M- H-anel A-parte C] ⁻	
10	5,20	346	285,0400	285,0405	-1,7		Herbacetina
11	5,32	288	301,0711	301,0718	-2,3	164,0113 [M- H-anel A-parte C] ⁻ ; 134,0368 [M-H-anel B] ⁻ ; 151,0030 [M- H-anel A-parte C] ⁻	Trihidroxi- metoxiflava- nona
12	5,40	350	315,0504	315,0510	-1,9	300,0273 [M- H-CH ₃] ⁻ ; 271,0239 [M- H-CO] ⁻	Isorhamnetina
13	5,54	360	299,0561	299,0561	0,0	284,0314 [M- H-CH ₃] ⁻ ; 255,0288 [M- H-CO] ⁻ ; 227,0337 [M- H-CO] ⁻	Kanferol metil éter
14	5,71	352	329,0661	329,0667	-1,8	314,0419 [M- H-CH ₃] ⁻ ; 299,0184 [M- H-CH ₃] ⁻ ; 271,0232 [M- H-CO] ⁻ ; 243,0347 [M- H-CO] ⁻	Quercetina dimetil éter
15	5,77	352	329,0661	329,0667	-1,8	314,0419 [M- H-CH ₃] ⁻ ; 299,0184 [M- H-CH ₃] ⁻ ; 271,0232 [M-	Quercetina dimetil éter

							H-CO ⁻ ; 243,0347 [M- H-CO ⁻]	
16	6,08	288	301,0711	301,0718	-2,3	165,0189 [M- H-anel A-parte C ⁻]; 135,0437 [M-H-anel B ⁻]	Trihidroxi- metoxiflavo- nona	
17	6,22	260	315,0869	315,0874	-1,5		Dihidroxi- dimetoxiflavo- nona	
18	6,33	360	313,0713	313,0718	-1,5	298,0484 [M- H-CH ₃] ⁻ ; 283,0247 [M- H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi- dimetoxiflavo- na	
19	6,48		287,2216	287,2228	-4,1		Dihidroxi- ácido hexade- canóico ac.graxo	
20	6,66	352	329,0661	329,0667	-1,8	314,0419 [M- H-CH ₃] ⁻ ; 299,0184 [M- H-CH ₃] ⁻ 271,0232 [M- H-CO ⁻]; 243,0347 [M- H-CO ⁻]	Quercetina dimetil éter	
21	6,85	352	343,0829	343,0823	1,7	313,0402 [M- H-2CH ₃] ⁻ ; 298,0185 [M- H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi- trimetoxiflavo- na	
22	7,07	288	285,0760	285,0768	-2,8	165,0186 [M- H-anel A-parte C ⁻]; 119,0498 [M-H-anel B ⁻]	Hidroxi- metoxi- chalcona	
23	7,21	340	283,0609	283,0612	-1,0	268,0364 [M- H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi- metoxiflavo-	

							nona
24	7,69	360	313,0713	313,0718	-1,5	298,0484 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 283,0247 [M-H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi-dimetoxiflavona
25	8,00		313,2736	313,2748	-3.8		2-hidroxi-ácido nonadecanóico
26	8,57		287,2220	287,2228	-2,7	243,9913 [M-H-CO ₂] ⁻	Dihidroxi-ácido hexadecanóico
27	9,00		665,3906	665,3906	0,0	485,3117 [M-H-glicose] ⁻ ;	Saponina
28	9,30		617,3840	617,3848	-2,7	469,3152 [M-H-coumaroil] ⁻	Saponina
29	9,60		315,2538	315,2541	-0,9	297,2418 [M-H-H ₂ O]	Dihidroxi-ácido esteárico
30	9,65		315,2538	315,2541	-0,9	269,2478 [M-H-HCO ₂ H] ⁻ ; 239,2375; [M-H-C ₂ H ₆] ⁻ ; 211,1700 [M-H-CO] ⁻	Dihidroxi-ácido octadecanóico
31	9,82		503,3382	503,3378	0,7		Triterpeno ácido
32	10,06		471,3475	471,3480	-1,0	343,2850 [M-H-cadeia lateral, C ₆ H ₉ O ₃] ⁻	Triterpeno ácido

Tabela 2. Identificação dos compostos de própolis 2 da abelha arapuá por UPLC-QTOF-MS/MS.

	TR(min)	λ máx.(nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	[M-H] ⁻ (m/z)Calculado	Erro (ppm)	MS/MS	Tentativa de identificação
33	4,10	288	287,0556	287,0561	-1,7	135,0443 [M-H-anel A] ⁻ ; 151,0028 [M-H-anel B] ⁻	Tetrahydroxi-flavanona
34	4,48	350	301,0354	301,0354	0,0	193,0141 [M-H-anel B] ⁻	Quercetina
34	4,70	350	315,0504	315,0510	-1,9	300,0273 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 271,0239 [M-H-CO] ⁻	Quercetina metil éter
35	4,92	290	271,0605	271,0612	-2,5	151,0035 [M-H-anel A] ⁻ ; 119,0501 [M-H-anel B] ⁻	Naringenina
36	5,00	345	269,0450	269,0455	-1,8		Trihidroxi-flavona
37	5,14	280	301,0711	301,0718	-2,3	164,0113 [M-H-anel A-parte C] ⁻ ; 134,0368 [M-H-anel B] ⁻ ; 151,0030 [M-H-anel A-parte C] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona
38	5,20	346	285,0400	285,0405	-1,7		Herbacetina
39	5,32	288	301,0711	301,0718	-1,7	164,0113 [M-H-anel A-parte C] ⁻ ; 134,0368 [M-H-anel B] ⁻ ; 151,0030 [M-H-anel A-parte C] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona
40	5,54	360	299,0561	299,0561	0,0	284,0314[M-H-CH ₃] ⁻ ; 255,0288 [M-H-CO] ⁻ ;227,0337 [M-H-CO] ⁻	Kanferol metil éter
41	5,71	352	329,0661	329,0667	-1,8	314,0419 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 299,0184 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 271,0232 [M-H-CO] ⁻ ; 243,0347 [M-H-CO] ⁻	Quercetina dimetil éter
42	5,77	352	329,0661	329,0667	-1,8	314,0419 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 299,0184 [M-H-CH ₃] ⁻ ; ;271,0232 [M-H-CO] ⁻ ; 243,0347 [M-H-CO] ⁻	Quercetina dimetil éter
43	6,08	288	301,0711	301,0718	-1,7	165,0189 [M-H-anel A-parte C] ⁻ ;135,0437 [M-H-anel B] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona

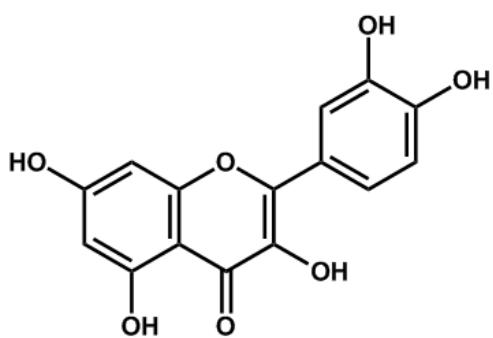
44	6,22	260	315,0869	315,0874	-1,5		Dihidroxi-dimetoxi-flavanona
45	6,33	360	313,0713	313,0718	-1,5	298,0484 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 283,0247 [M-H-CH ₃] ⁻ ;	Dihidroxi-dimetoxi-flavona
46	6,66	352	329,0661	329,0667	-1,8	314,0419 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 299,0184 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 271,0232 [M-H-CO] ⁻ ; 243,0347 [M-H-CO] ⁻	Quercetina dimetil éter
47	6,85	352	343,0829	343,0823	1,7	313,0402 [M-H-2CH ₃] ⁻ ; 298,0185 [M-H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi-trimetoxi-flavona
48	7,07	288	285,0760	285,0768	-2,8	165,0186 [M-H-anel A-parte C] ⁻ ; 119,0498 [M-H- anel B] ⁻	Hidroxi-metoxi-chalcona
49	7,21	340	283,0609	283,0612	-1,0	268,0364 [M-H-CH ₃] ⁻ ;	Dihidroxi-metoxi-flavanona
50	7,69	360	313,0713	313,0718	-1,5	298,0484 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 283,0247 [M-H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi-dimetoxi-flavona
51	8,00		313,2736	313,2748	-3,8		2-hidroxi- ácido nonadecanóico
52	8,57		287,2220	287,2228	-2,7	243,9913 [M-H-CO ₂] ⁻	Dihidroxi- ácido hexadecanóico
53	9,00		665,3906	665,3906	0,0	485,3117 [M-H-glicose] ⁻	Saponina
54	9,30		617,3840	617,3848	-2,7	469,3152 [M-H-coumaroil] ⁻	saponina
55	9,60		315,2538	315,2541	-0,9	297,2418 [M-H-H ₂ O] ⁻	Dihidroxi- ácido esteárico
56	9,65		315,2538	315,2541	-0,9	269,2478 [M-H-HCO ₂ H] ⁻ ; 239,2375 [M-H-C ₂ H ₆] ⁻ ; 211,1700 [M-H-CO] ⁻	Dihidroxi- ácido octadecanóico
57	9,82		503,3382	503,3378	0,7		Triterpeno ácido
58	10,06		471,3475	471,3480	-1,0	343,2850 [M-H-cadeia lateral, C ₆ H ₉ O ₃] ⁻	Triterpeno ácido

5.1.1 Flavonoides

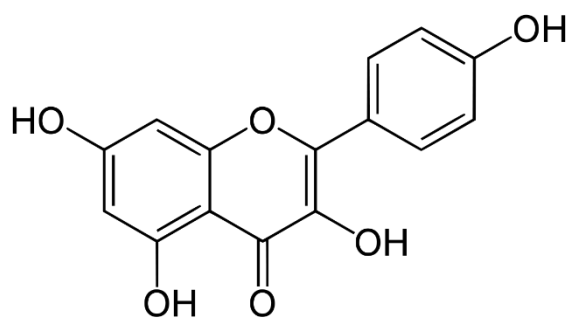
Os espectros obtidos na região de UV são necessários para distinção entre as várias classes de flavonoides, classificando-os: flavonas/flavonois (com dois máximos de absorbância em 250-260 e 350 nm), flavanona (máximo entre 280-290 nm) e chalcona (máximo entre 242 e 364 nm).

A fragmentação de íons obtidos nos espectros de massas ajudou na identificação dos flavonoides, os picos mais comuns derivados da perda neutra de pequenas moléculas ou íons, como por exemplo CO (-28 u) e CO₂ (-44 u), os flavonoides metoxilados foram caracterizados pela perda de CH₃ (-15 u) conforme estão nas Tabelas 1 e 2. (RIJKE et al., 2006). Aparecem outros fragmentos resultantes da quebra do anel C dos flavonoides produzidos pela reação de retro-Diels-Alder (RDA) deram informação para a identificação das subclasses de flavonoides. Os íons resultantes de RDA de flavonas, flavonóis, flavanonas e flavanonóis foram encontrados com m/z de 151 no modo negativo. A clivagem RDA resulta em fragmentos que revelam o padrão de substituição nos anéis A e B. Os íons produtos A e B representam os anéis, sendo esses fragmentos um possível padrão de substituição nestes anéis relativo ao número de hidroxilas e metoxilas presentes, embora não possa indicar a posição exata destes grupos no anel (SANTISTEBAN et al., 2019). A rota de fragmentação proposta para a formação dos íons, é representada na (Figura 4), evidenciando pelos dados obtidos no espectro de MS/MS.

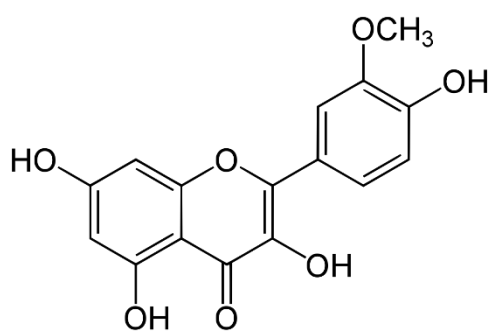
Os flavonoides agliconas encontrados, em sua maior parte, são hidroxilados ou metilados e foram: quercetina, kanferol, isorhamnetina, naringenina, herbacetina, além de chalconas (Figura 5). Os flavonoides participam de importantes funções no crescimento, desenvolvimento e na defesa dos vegetais contra o ataque de patógeno (DIXON; HARRISON, 1990). No entanto, ainda são pouco usados terapêuticamente na medicina popular do ocidente, embora possuam atividade antioxidante na função protetora e no tratamento de doenças degenerativas mediadas por estresse oxidativo (MIDDLETON; KANDASWAMI; THEOHARIDES, 2000).



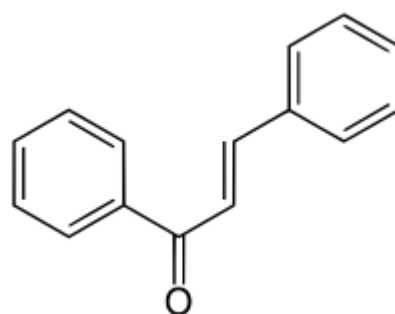
Quercetina



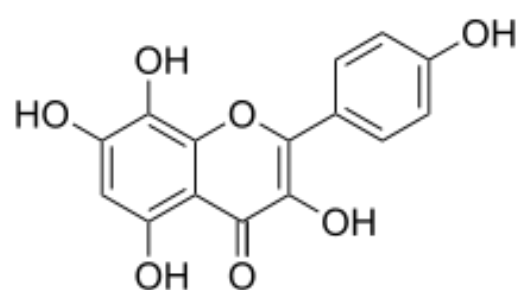
Kanferol



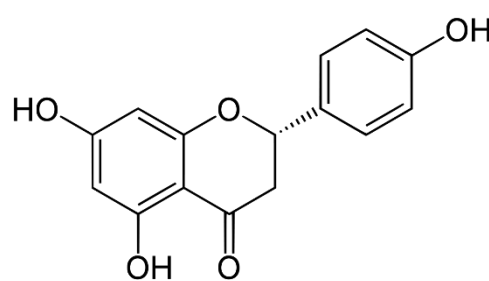
Isorhamnetina



Chalcona



Herbacetina



Naringenina

Figura 4. Núcleo dos principais flavonoides identificados nas amostras de própolis de arapuá.

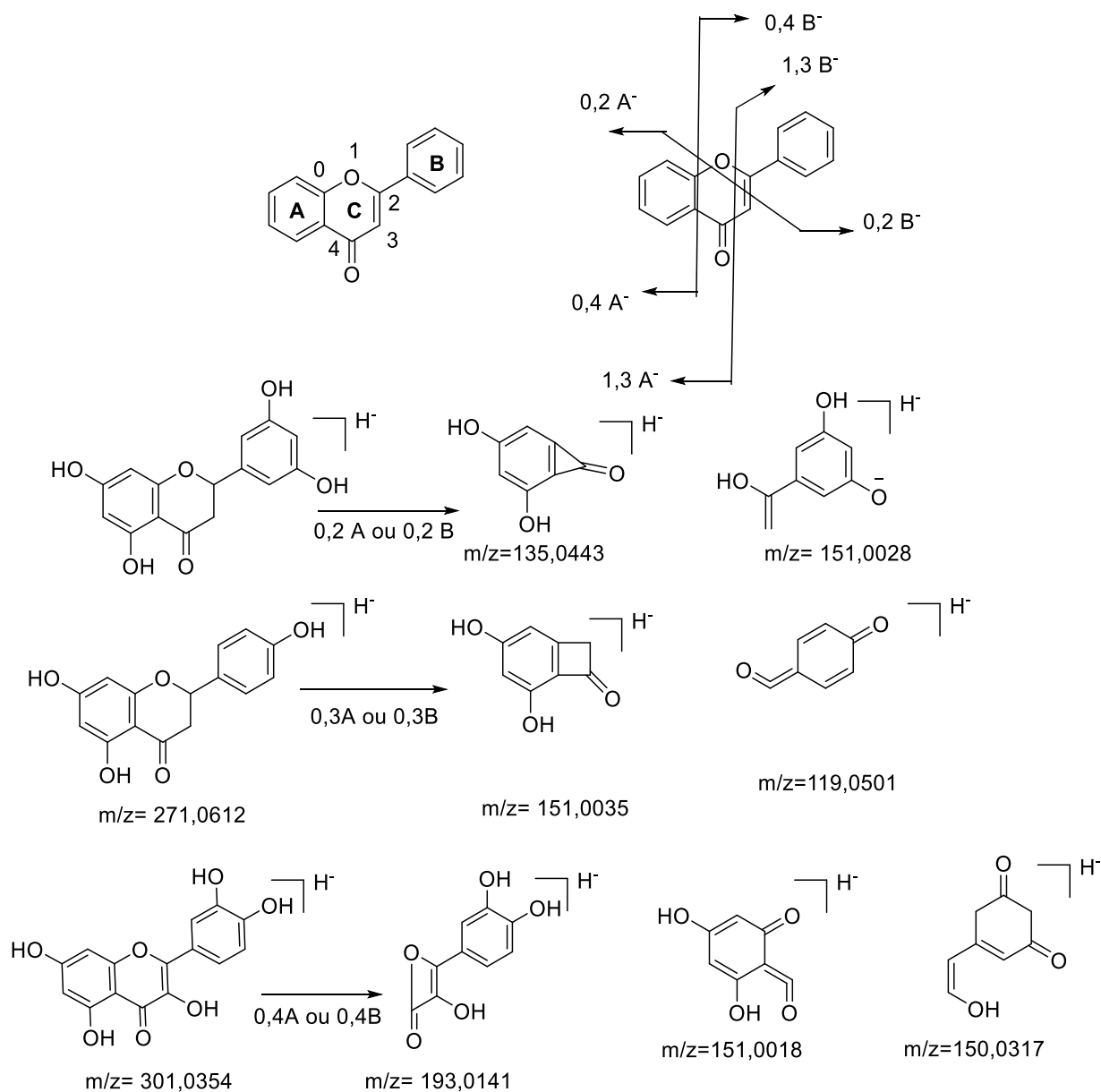


Figura 5. Proposta do mecanismo fragmentação para os flavonoides

A diversidade de compostos fenólicos presente nas própolis está relacionada com a complexidade das resinas vegetais utilizadas pelas abelhas, pela combinação de várias espécies botânicas visitadas, principalmente, em locais de grande diversidade de plantas (KOO; PARK, 1997; PARK et al., 1997).

5.1.2 Poliaminas

Os compostos (1) foi atribuídos como poliaminas na amostra própolis 1, com picos para moléculas desprotonadas em $m/z = 630, 2457 [M-H]^-$, respectivamente, e foi identificado como N^1, N^5, N^{10} -tricafeoil espermidina. A partir dos espectros MS/MS foi possível observar íons do produto em $m/z = 494, 1918 [M-2H-\text{cafeoil}]^-$; e $468, 2115 [M-2H-\text{cafeoil}]^-$; são característicos de grupos cafeoil nas moléculas. Conforme podemos observar a proposta de fragmentação para esse composto e para toda a série que ele representa, procurando interpretar os íons observados no espectro no (Figura 6).

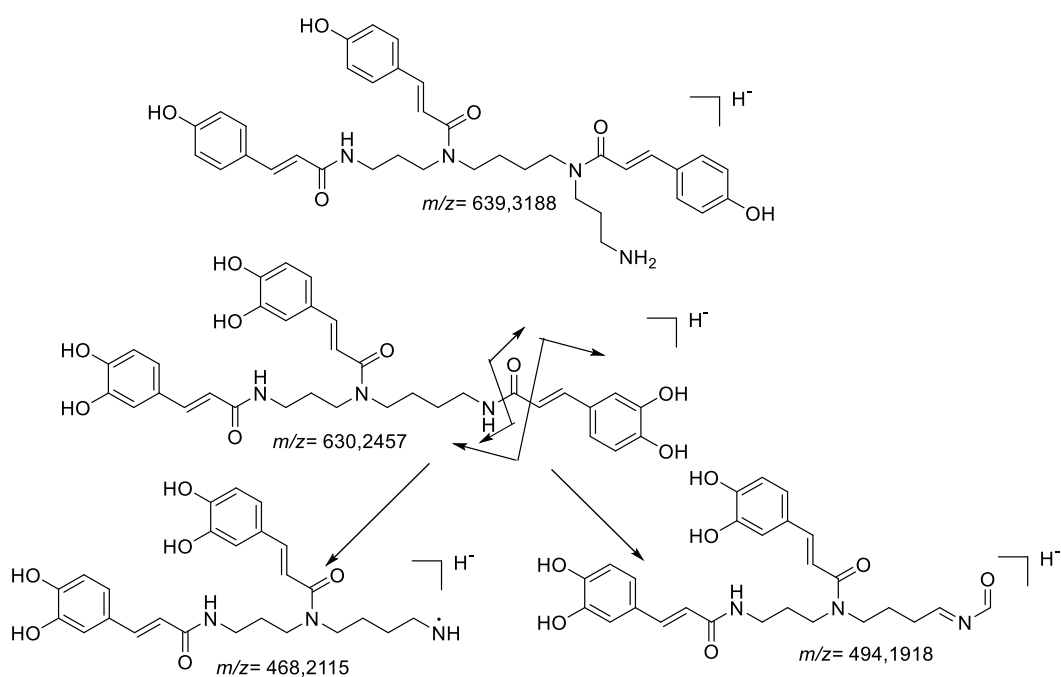


Figura 6. Proposta do mecanismo de fragmentação do composto N^1, N^5, N^{10} -tri-trans-p-coumaroil espermina representando um poliamina.

Estudos preliminares com as flores de *Geoffroea spinosa* Jacq. (Leguminosae) mostraram a presença do composto N^1 , N^5 , N^{10} -tri-p – coumaroil-espermidina (CABRERA, 2021).

5.1.3 Terpenos

Para a amostra de própolis 1 (Tabela 1) os compostos (33 e 34) e para a própolis 2 (Tabela 2) os compostos (60 e 61) foram atribuídos como triterpenos. Os íons produtos MS / MS mais abundantes em modo negativo foram $[M-HCOOH]^-$, $[M-H-C_2H_6]^-$; $[M-H-CO]^-$. Os terpenóides fazem parte de uma classe de moléculas que contém uma grande quantidade de isômeros, apresentando, em alguns casos, modificações bastante sutis em suas estruturas químicas, a proposta de identificação apresentou fragmentos característicos e esqueleto de triterpenos ácidos. Os íons apresentados nesta proposta de fragmentação também são observados na Figura 7.

Os terpenos são substâncias orgânicas produzidas como metabólitos secundários - principalmente em plantas promovidas por fatores bióticos (CORREIA et al., 2008; VIEGAS JÚNIOR, 2003). Dessa forma, os terpenos apresentam reconhecida atividade antimicrobiana, anticâncer, anti-inflamatória, antibacteriano, antifúngico, antidiurético, giardicida e inibidores da enzima acetilcolinesterase (DE MARTINO et al., 2014; LUTFI & ROQUE, 2014, SANTISTEBAN, 2019). Além das plantas, esses compostos também podem ser produzidos por animais e micro-organismos, como fungos e bactérias (DVORA & KOFFAS, 2013).

Triterpenos são derivados de unidades de isopreno, estão entre as maiores e diversas classes de produtos naturais, podem apresentar vários grupos funcionais; tais como hidroxila, carbóxila, carbonila, alquila, malonila e glicosila, mais de 20.000 estruturas triterpênicas distintas com mais de 100 variações esqueléticas são identificadas a partir de fontes naturais (GHOSH, 2016).

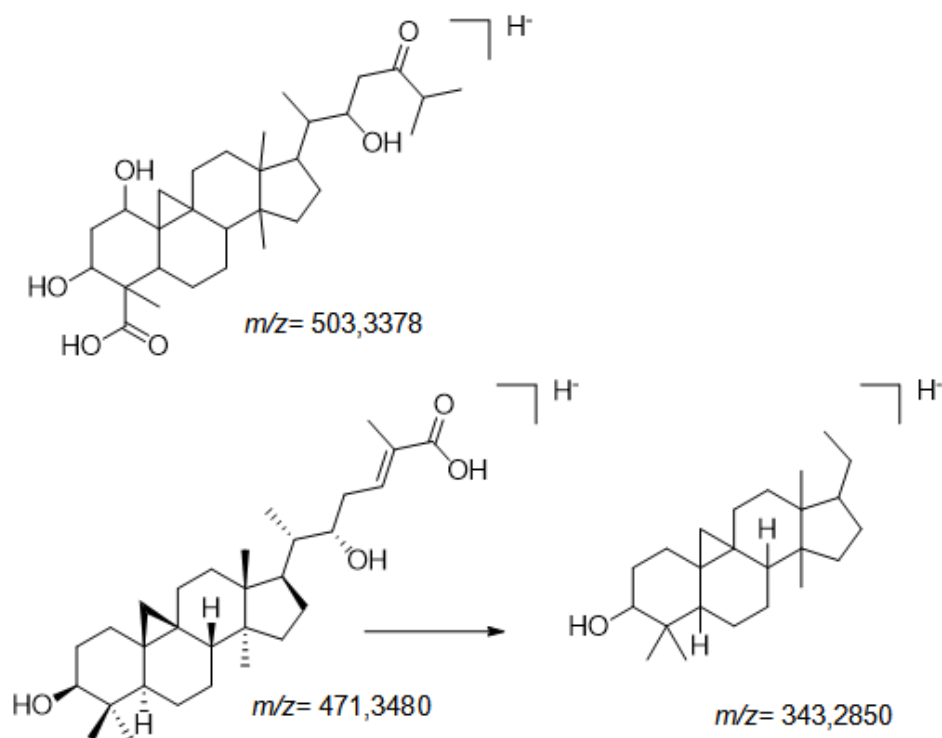


Figura 7. Proposta do mecanismo fragmentação para os triterpenos.

5.1.4 Saponinas

As saponinas apresentam glicosídeos de alta massa molecular e pode ser constituída de um triterpeno ou esteroide, e está covalentemente ligada a diferentes números e tipos de unidades de açúcar. A classificação destes saponosídeos geralmente é feita de acordo com a aglicona, podendo ser denominados saponinas triterpênicas ou saponinas esteroidais.

Para a amostra de própolis 1 (Tabela 1) os compostos (28 e 29) e para a própolis 2 (Tabela 2) os compostos (56 e 57) foram atribuídos como saponinas, com picos para moléculas desprotonadas em $m/z = 665,3906$ e $617,3840$ respectivamente em ambas as amostras de própolis e os íons produtos MS / MS mais abundantes

ionizado no modo negativo foram $[M-H\text{-glicose}]^-$; 485.3117; $[M-H\text{-coumaroil}]^-$; 469.3152.

Exemplos das fragmentações de saponinas triterpênicas e esteroidais podem ser visualizados nas tabelas a (1 e 2) além da proposta de fragmentação padrão para esse composto e para toda a série que ele representa, procurando interpretar os íons observados no espectro de acordo com a (Figura 8).

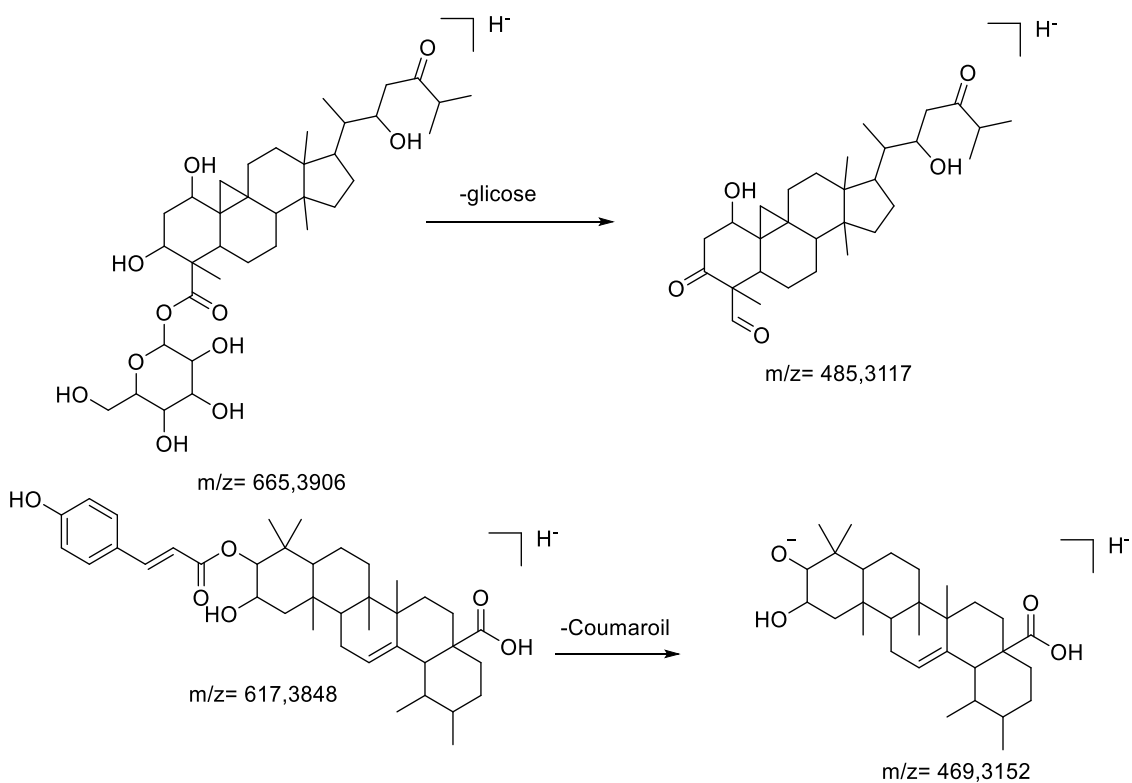


Figura 8. Proposta do mecanismo fragmentação para as saponinas.

5.1.5 Ácidos graxos

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos, geralmente monocarboxílicos, com cadeias hidrocarbônicas. Para a amostra de própolis 1 (Tabela 1) os compostos (20, 26, 27, 30 e 31) e para a própolis 2 (Tabela 2) os compostos (54, 55, 58 e 59) foram atribuídos como ácidos graxos e estão descritos conforme as tabelas (1 e 2).

Os íons produtos possíveis de serem analisados referentes a estas moléculas, apresentam perdas característica de CO_2 , CO e H_2O . Esses dados sugerem a fragmentação característica dos ácidos graxos, os íons observados no espectro de acordo com a (Figura 9), como proposta de fragmentação para estes compostos.

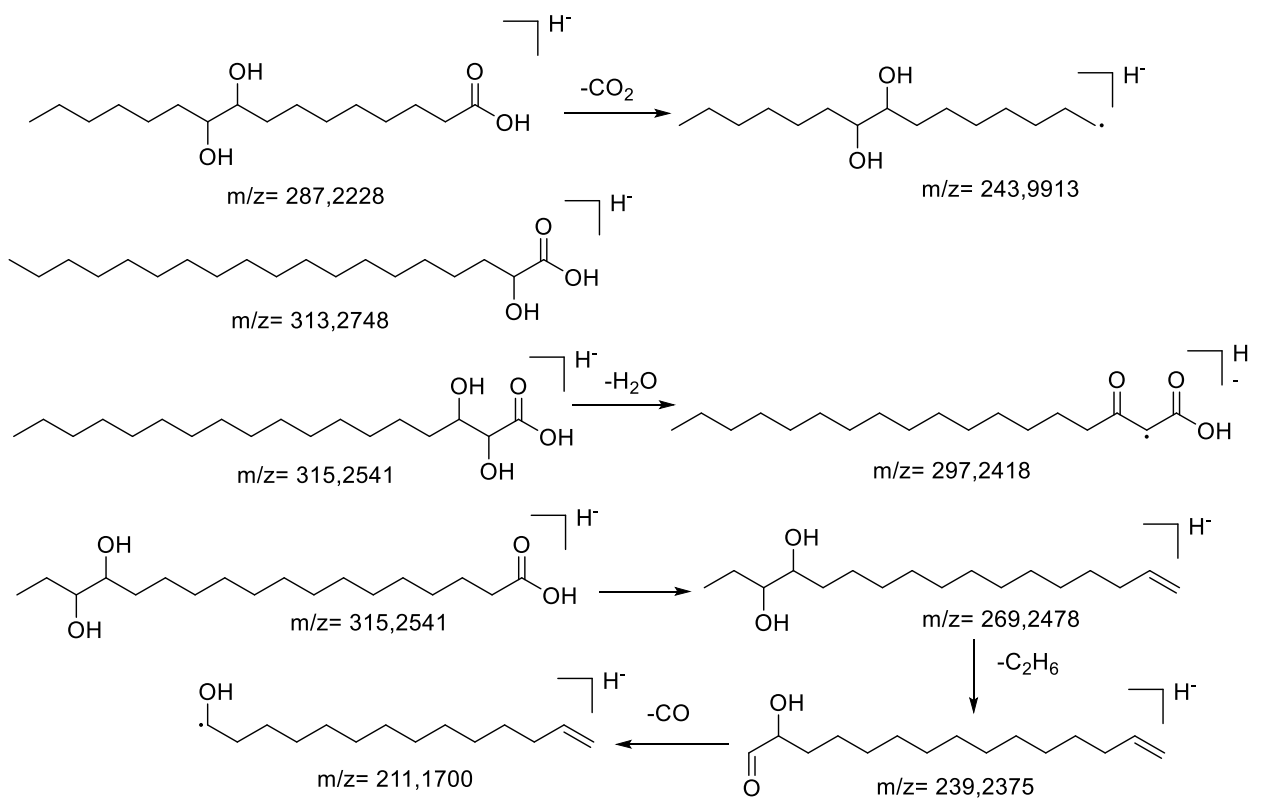


Figura 9. Proposta do mecanismo fragmentação para os ácidos graxos.

5.2 Análise por Cromatografia gasosa espectrometria de massas (CG/MS) das própolis

Para análise da composição das substâncias voláteis nas amostras de própolis, foi utilizada cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS). A partir da obtenção das frações por partição do extrato etanólico, foram analisadas as frações hexânicas para as amostras de própolis 1 e 2.

Os cromatogramas GC-MS e as Tabelas 3 e 4 mostra os compostos tentativamente identificados e não identificados na fração hexânica, a determinação dos possíveis constituintes químicos estão conforme sugestões da biblioteca NIST do sistema.

Nos cromatogramas foi possível identificar vários compostos orgânicos voláteis que pertencem a várias classes, como: esteroides, triterpenos: esteroidais, ácidos, hidroxilados e metoxilados. As Figuras 10 e 11 mostram os cromatogramas típicos das amostras de própolis e exibe os compostos identificados. Esses compostos foram observados nas frações analisadas de própolis, no entanto, eles apresentaram diferentes intensidades em cada uma das amostras.

A partir desta análise temos como possíveis estruturas para os metabolitos da própolis 1 fração hexânica os de tipo triterpênicos: esteroidais, ácidos, hidroxilados e metoxilados. Para a própolis 2 temos majoritariamente terpenos e esteroides, neste contexto o perfil químico dessas matrizes podem ser uma fonte rica para aplicações farmacológicas, atribuídos pela ação dos terpenos destacando-se as atividades no sistema cardiovascular. Diversos autores relatam o potencial de terpenos em ensaios farmacológicos onde estes desempenham atividades vasorelaxante, hipotensiva e na diminuição da frequência cardíaca (PEIXOTO-NEVES et al., 2010, p. 342; BASTOS et al., 2010, p. 331; MAGALHÃES et al., 2008, p. 174).

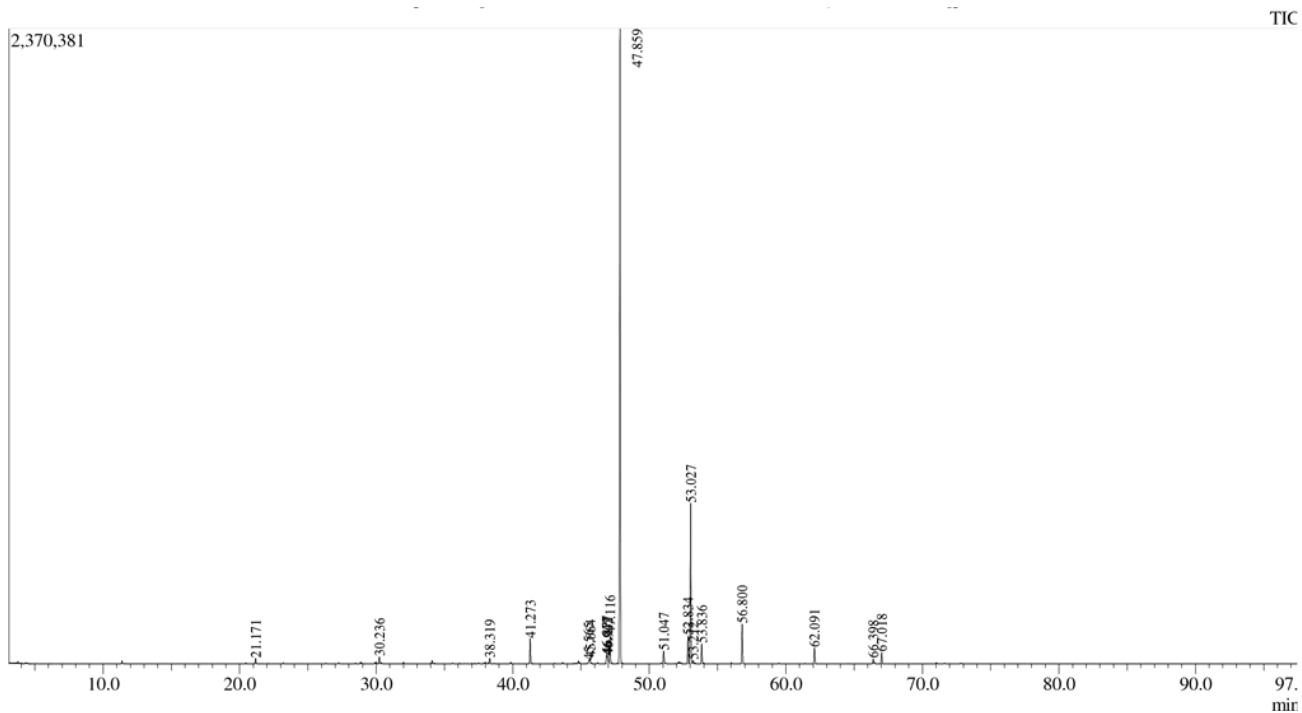


Figura 10. Cromatograma da fração hexânica da própolis 1 da Arapuá.

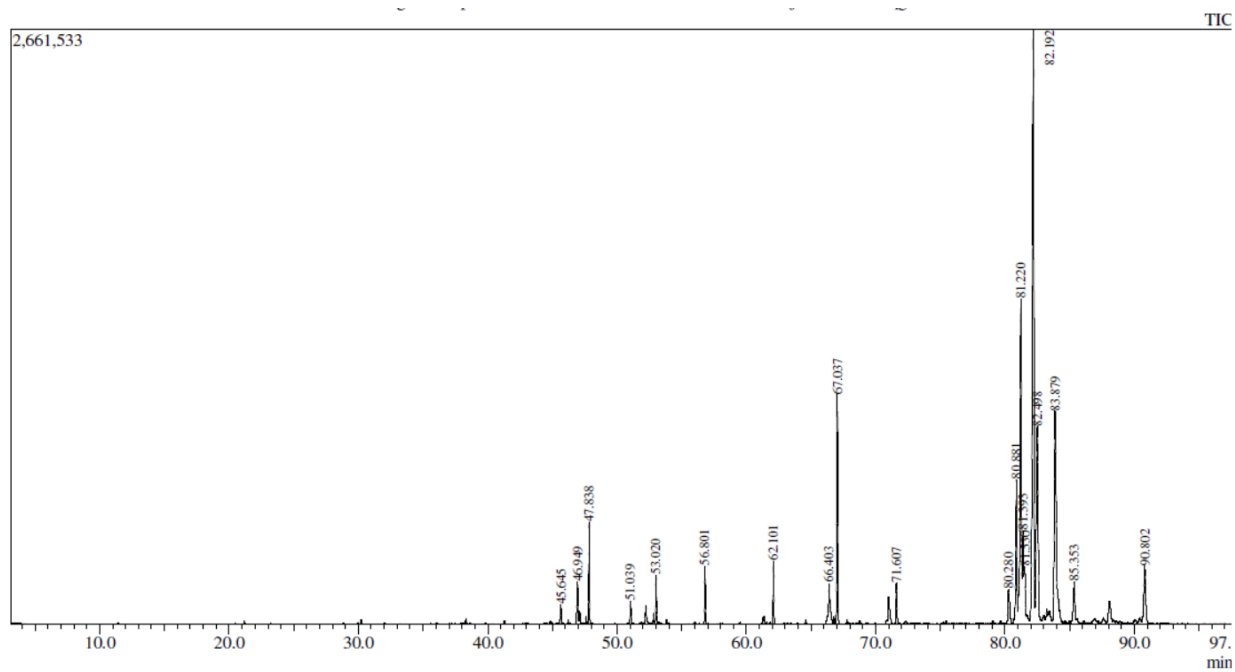


Figura 11. Cromatograma da fração hexânica da própolis 2 da Arapuá.

Tabela 3. Identificação dos compostos de própolis 1 da fração hexânica de arapúá por CG/MS
 ENUMERAR A TABELA INICIANDO COM PICO 1

PICO	TR (min)	FM	% A	Proposta do composto
59	21,171	C ₉ H ₁₆ O ₂	0,55	2,2,5-trimetilhexano-3,4-diona
60	30,236	C ₁₂ H ₂₆	0,70	2,4-dimetil-Decano
61	38,319	C ₉ H ₁₆ O ₂	0,66	2,2,5-trimetilhexano-3,4-diona
62	41,273	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	2,62	Tridecanoato de etila
63	45,565	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	0,42	oxalato de bis(2,2-dimetilpropil)
64	46,877	C ₇ H ₁₂ O ₂	0,41	2-Ácido propenóico, 2-metil-propil ester
65	46,917	C ₄ H ₁₁ NO	0,93	Hidroxilamina, O-(2-metilpropil)
66	46,942	C ₆ H ₁₂	0,29	2-metil-1-Penteno
67	47,116	C ₆ H ₁₀ O	0,58	2-Hexenal
68	47,859	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	3,02	Ácido oleico
69	51,047	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	59,89	Ácido octadenóico, etil ester
70	52,834	C ₁₄ H ₃₀	1,54	3-metil-Tridecano
71	53,027	C ₁₄ H ₂₄ O	2,82	13-Tetradec-11-in-1-ol
72	53,212	C ₁₈ H ₃₁ ClO	15,46	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoil-cloreto
73	53,836	C ₁₂ H ₂₄	0,35	(E)-2,3,3-trimetil-non-4-eno
74	56,800	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	2,05	metil 2,6,10,14-tetrametilpentadecanoato
75	56,800	C ₁₃ H ₂₈	4,14	Tridecano
76	62,091	C ₁₂ H ₂₆	1,84	2,9-dimetil- Decano
77	66,398	C ₂₃ H ₄₆	0,43	11-Tricosene
78	67,018	C ₁₂ H ₂₆	1,31	2,9-dimetil- Decano

Tabela 4. Identificação dos compostos de própolis 2 da fração hexânica de arapúá por CG/MS.

PICO	TR (min)	FM	% A	Proposta do composto
79	45,645	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0,31	ácido tetradecanóico, 12-metil-, metil ester
80	46,949	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0,41	Ácido nonacadenóico
81	47,838	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	2,45	hexadecanoato de etila
82	51,039	C ₂₃ H ₄₄ O ₂	0,55	metil (E)-docos-13-enoato
83	53,020	C ₁₄ H ₂₆ O	1,18	tetradec-3-in-1-ol
84	56,801	C ₂₀ H ₄₂	1,52	2-metilnonadecano
86	62,101	C ₂₀ H ₄₂	1,49	2-metilnonadecano
87	66,403	C ₂₄ H ₅₀ O	0,64	n-tetracosan-1-ol
88	67,037	C ₂₈ H ₅₈	5,97	octacosano
89	71,037	C ₁₄ H ₂₉	0,95	2-bromotetradecano
90	80,280	C ₂₉ H ₄₆	0,44	24-Norursa-3,12-dieno
91	80,881	C ₂₉ H ₄₆	5,02	24-Norursa-3,12-dieno
92	81,220	C ₃₀ H ₅₀ O	14,21	Lanosterol
93	81,393	C ₂₉ H ₄₆	3,48	24-Noroleana-3,12-dieno
94	81,530	C ₃₀ H ₄₈ O	1,97	Lup-20(29)-en-3-ona
95	82,192	C ₃₀ H ₅₀ O	27,90	Lupeol
96	82,498	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	11,84	4,14-Dimetil-9,19- cicloergost-24(28) -en-3-ol
97	83,879	C ₃₁ H ₅₂ O	14,43	(3β)- 24-metileno-9,19-Ciclolanostan-3-ol
98	85,353	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	1,80	(Lup-20(29)-en-3β-ol, acetato
99	90,802	C ₄₂ H ₆₃ O ₄	3,44	tris(2,4-di <i>terc</i> - butilfenil) fosfato

5.3 Teor de fenólicos, flavonoides e atividade antirradicalar dos extratos etanólicos da própolis de *Trigona spinipes*

A amostra própolis 2 da própolis de *Trigona spinipes* apresentou maior teor de compostos fenólicos e maior teor de flavonoides em relação aos extratos de própolis 1 (Tabela 5). Portanto, as espécies vegetais visitadas por estas abelhas apresentam classes de substâncias que proporcionam uma melhor atividade antioxidante, considerando a influência dos fatores sazonais e abundância florífera influenciam na expressão dos fenólicos presentes nessas matrizes. Os antioxidantes, que em muitos casos apresentam estruturas fenólicas, são utilizados no organismo, principalmente, para retardar ou inibir processos de perdas de elétrons em sistemas oxidativos, impedindo a formação de radicais livres (SILVA, 2013).

Tabela 5. Teor de fenólicos totais e flavonoides nos extratos etanólicos das própolis.

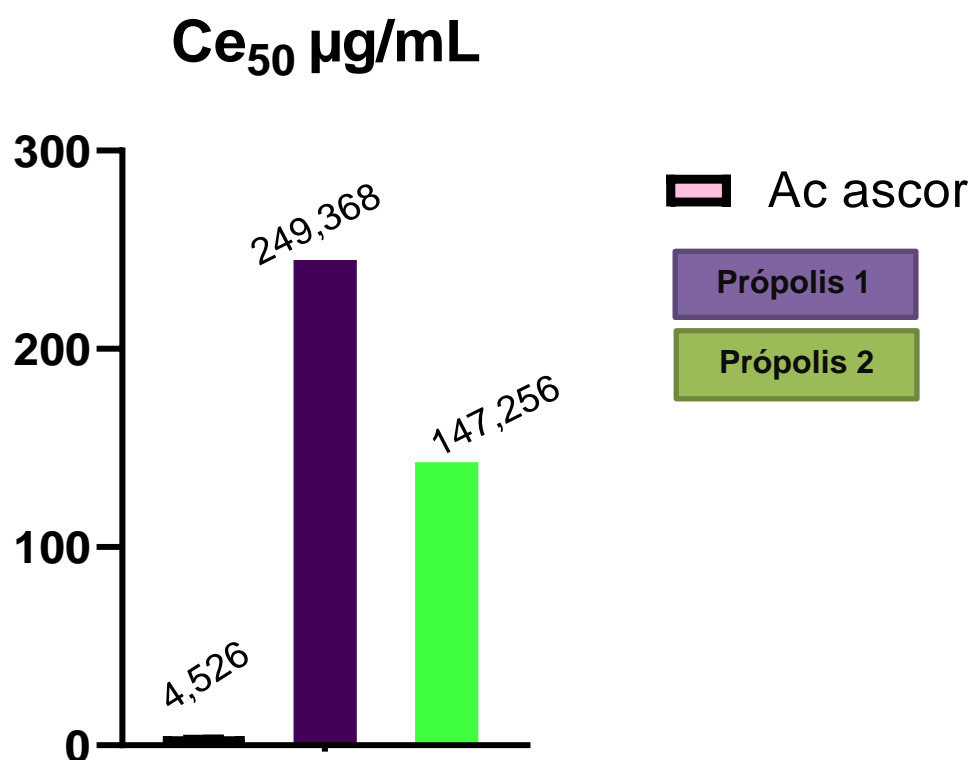
Extratos etanólicos	Teor de Fenólicos (mg EQ ácido gálico/g de extrato)	Teor de flavonoides (mg EQ/g de extrato)
própolis 1	20,083 ± 1,11	10,828 ± 0,34
própolis 2	54,507 ± 3,09	20,023 ± 1,21

O teste de DPPH revelou que a atividade antirradicalar do extrato da própolis 2 apresentou uma melhor CE_{50} (MELHOR CE_{50} ?) além disto, teve maior teor para fenólicos e flavonoides em relação ao extrato da própolis 1 (GRÁFICO 1). O efeito antirradicalar do extrato etanólico das própolis deve-se, provavelmente ao conteúdo de fenóis totais, além dos demais metabólitos presentes nas amostras que atuam de forma sinérgica. Sousa et al. (2007) descreve que na maioria dos extratos a atividade antirradicalar está correlacionada com a presença de fenóis.

Como é possível observar através dos dados químicos descritos acima nas Tabelas 1 e 2 podemos sugerir que OS flavonoides possam estar envolvidos, pelo menos em parte, no mecanismo antioxidante destas amostras de propolis. Considerando essa premissa, o presente trabalho estimula a continuidade dos estudos de isolamento e avaliação antioxidante dessas substâncias polifenólicas, tanto *in vitro* como *in vivo*, as quais podem vir a contribuir com efeitos de proteção contra diversos processos patológicos que afetam os seres humanos.

Os antioxidantes podem ser de grande benefício para a melhoria da qualidade de vida, já que eles têm a capacidade de proteger um organismo dos danos causados pelos radicais livres, prevenindo ou adiando o início de várias doenças, como cardiovasculares, crônicas (câncer, aterosclerose, artrite reumática, hipertrofia muscular) e neurodegenerativas (Mal de Alzheimer) (OLIVEIRA, 2015).

Gráfico 1. Atividades antirradicalar dos extratos etanólicos das própolis



6 CONCLUSÃO

O estudo químico da fração DE acetato de etila DA PROPÓLIS DA ABELHA *T. spinipes* permitiram detectar a presença de substâncias da classe de poliaminas, compostos fenólicos, terpenos e ácidos graxos.

A análise por CG-MS da fração hexânica permitiu a identificação de 20 possíveis compostos de cada fração. Para própolis 1 temos majoritariamente terpenóides e para própolis 2 núcleos terpênicos e esteroides.

A atividade antirradicalar dos extratos etanólicos das própolis mostram que as mesmas são fontes ricas de compostos bioativos com potencial antioxidante, comparando as duas amostras analisadas a própolis 2 apresentou menor CE_{50} , tais resultados estão atribuídos a maior incidência de polifenóis no seu extrato. A fração hexânica pode ser uma fonte alternativa de compostos bioativos. No entanto, vale ressaltar que o desenvolvimento dos testes biológicos e outros radicais, assim como o isolamento das substâncias dos extratos e frações são importantes dados para complementar os resultados já obtidos neste trabalho.

7 REFERÊNCIAS

AGUIAR, L. K. et al. Parâmetros físico-químicos do mel de abelhas sem ferrão do estado do Acre. **Enciclopedia Biosfera**, v. 13, p. 1314–1335, 2016.

ALISSON, ELTON. «Abelha nativa brasileira é capaz de compensar o declínio de outros polinizadores». Agência FAPESP. 6 de novembro de 2015. Consultado em 10 de Janeiro de 2022.

ALMEIDA, MARIA CHRISTINA DE; LAROCA, SEBASTIÃO (1988). «Trigona spinipes (Apidae, Meliponinae): Taxonomia, bionomia e relações tróficas em áreas restritas». *Acta Biológica Paranaense* (0). ISSN 2236-1472.

ANDRADE, B. R. et al. Pollen spectrum and trophic niche width of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) in highly urbanized and industrialized sites. **Sociobiology**, Feira de Santana, v. 66, n. 2, p. 279-286, 2019.

ÁVILA, S.; HORNUNG, P. S.; TEIXEIRA, G. L.; MALUNGA, L. N.; APEA-BAH, F. B.; BEUX, M. R.; BETA, T.; RIBANI, R. H. Bioactive compounds and biological properties of Brazilian stingless bee honey have a strong relationship with the pollen floral origin. **FoodResearch International**, v. 123, p. 1–10, 2019.

BASTOS, J. F.; MOREIRA, I. J.; RIBEIRO, T. P.; MEDEIROS, I. A.; ANTONIOLLI, A. R.; SOUSA, D. P.; SANTOS, M.R. Hypotensive and vasorelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol, in rats. **Basical Clinical Pharmacology and Toxicology**, v. 106, p.331-337,2010

BANKOVA, V.S.; CASTRO, S.L; MARCUCCI, M.C. Própolis recent advances in chemistry plant origin. **Apidologie**, Les Ulis, v.31, p.3-15, 2000.

BALLIVIÁN, J. M. P. P. Abelhas Nativas sem ferrao. **Oikos Ed.** São Leopoldo: Oikos: p. 128, 2008.

BARREIROS, A.L.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse Oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BORGES, C. K. Estudo do comportamento dos fluxos de calor e massa no bioma caatinga na região semiárida da Paraíba. 2017. 114 f. Tese (Doutorado em Meteorologia) – Programa de Pós-Graduação em Meteorologia, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2017.

CABRERA, Sônia P.; CÂMARA, Celso A.; SILVA, Tânia. Estudos químicos de flores de *Croton heliotropiifolius* e *Croton Blanchetianus* visitadas por abelhas. **Química de Compostos Naturais**, v. 57, n. 3, pág. 525-527, 2021.

CAMPOS, M. et al. An approach to the characterization of bee pollens via their flavonoid / phenolic profiles. **Phytochemical Analysis**, v. 8, n. September 1996, p. 181–185, 1997.

CAVALCANTI, Airton de Deus Cysneiros et al. Mudanças florísticas e estruturais, após cinco anos, em uma comunidade de Caatinga no estado de Pernambuco, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* [online]. 2009, v. 23, n. 4 [Acessado 24 Abril 2022], pp. 1210-1212. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-33062009000400032>>. Epub 07 Abr 2010. ISSN 1677-941X. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062009000400032>.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. M.; DA SILVA, E. P.; DAVID, J. P.; LOPES, L. M. X.; GUEDES, L. M. S. Flavonóides, norisoprenóides e outros terpenos das Folhas de *Tapirira guianensis*. **Química Nova**. v. 31, nº 8, p. 2056-2059, 2008

CHUTTONG, B.; CHANBANG, Y.; SRINGARM, K.; BURGETT, M. Physicochemical profiles of stingless bee (*Apidae: Meliponini*) honey from South east Asia (Thailand). **FoodChemistry**, v. 192, p. 149–155, 2016.

DA SILVA LUCENA, Leonardo et al. O imaginário ambiental sobre o Bioma Caatinga por alunos de um curso de graduação em Ciências Biológicas. **Meio Ambiente em Foco Volume 12**, p. 8.

DEGASPARI, C.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, 2004, v. 5, n. 2, p. 33-40

DE MARTINO, L.; NAZZARO, F.; MANCINI, E.; DE FEO, V. In: PREEDY, V. R.; WATSON, R. R.. (ed). 1° Ed. Essencial oils from Mediterranean Aromatic Plants. The Mediterranean Diet: An Evidence-Based Approach. Londres: **Elsevier**, 2014. Chap. 58, p. 649-661.

DEVASAGAYAM, T. P. A. et al. Free radicals and antioxidants in human health : current status and future prospects research. **October**, v. 52, n. November, 1997.

DIXON, R. A.; HARRISON, M. J. Activation, structure, and organization of genes involved in microbial defense in plants. **Advances in Genetics**, v. 28, n. C, p. 165–234, 1990.

DVORA, H., KOFFAS, M.A.G. In: McNeil, B.; Archer, D.; Giavasis, I.; Harvey, L.. (ed). 1° Ed. Microbial production of flavonoids and terpenoids. Microbial Production of Food Ingredients, Enzymes and Nutraceuticals. Cambridge: **Elsevier**, 2013. Chap. 10, p. 234-261.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O.; MATHOR, M. B. Analysis of propolis from *Baccharis-dracunculifolia* DC. (Compositae) and its effects on mouse fibroblasts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 206-212, 2007.

FREITAS, MARINALVA O. et al. Flavonoids and triterpenes from the nest of the stingless bee *Trigona spinipes*. **Journal of the Brazilian Chemical Society** [online]. 2008, v. 19, n. 3 [Accessed 14 November 2021] , pp. 532-535. Available from: <<https://doi.org/10.1590/S0103-50532008000300022>>. Epub 27 May 2008. ISSN 1678-4790. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532008000300022>

GIANNINI T.C., BOFF S., CORDEIRO G.D., CARTOLANO JR. E.A., VEIGA A.K., Imperatriz-Fonseca V.L., Saraiva A.M. 2015. Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. *Apidologie* 46: 209-223. URL: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13592-014-0316-z>.

GHISALBERTI, V.Q. Propolis: a review. **Bee World**, Gerrards Cross, v.60, n.2, p.59-84, 1979.

GHOSH, S. Biosynthesis of structurally diverse triterpenes in plants: the role of oxidosqualenecyclases. **Proceedings of the Indian National Science Academy**, v. 82, n. 4, p. 1189–1210, 2016.

HALLIWELL, B.; CROSS, C.E.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now?. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 119, p. 598-620, 1992.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; SANTOS, I. A. 2006. As Abelhas do Brasil. Disponível em: . Acesso: 08 de Nov. de 2021.

JAFFÉ R., CASTILLA A., POPE N., ET AL 2015. Landscape genetics of a tropical rescue pollinator. *Conserv Genet.* doi: 10.1007/s10592-015-0779-0
URL: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10592-015-0779-0>

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. 1996. Abelha Uruçu - Biologia, Manejo e Conservação. Belo Horizonte: Fundação Acangaú, Coleção Manejo da Vida Silvestre, nº. 2, 144 p.

KERR, W.; *Inf. Agropec.* **1987**, 13, 15.

KERR WE.; A importância da meliponicultura para o país. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento** 1: 42-44, 1997.

KOO, M. H.; PARK, Y. K. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 61, n. 2, p. 367–369, 1997.

LIU, Y.; QI, Y.; CHEN, X.; HE, H.; LIU, Z.; ZHANG, Z.; REN, Y.; REN, X. Phenolic compounds and antioxidant activity in red-and in green-fleshed kiwifruits. **Food Research International**, v. 116, p. 291–301, 2019.

LIMA MG. A produção de própolis no Brasil. São João da Boa Vista: São Sebastião Editora e Gráfica, 2006.

LINS, A.C.S. et al. Flavonóides isolados do pólen coletado pela abelha *Scaptotrigona bipunctata* (canudo). *Revista Brasileira de Farmacognosia* [online]. 2003, v. 13, suppl 2 [Acessado 6 Fevereiro 2022] , pp. 40-41. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2003000400013>>. Epub 25 Set 2009. ISSN 1981-528X. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2003000400013>.

LÓPEZ, B. G. C. et al. Phytochemical markers of different types of red propolis. **Foodchemistry**, v. 146, p. 174-180, 2014.

LUSTOSA, S. R. et al. Própolis: Atualizações sobre a química e a farmacologia. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 3, p. 447–454, 2008.

LUTFI, M.; ROQUE, N. F. Histórias de Eugênicas. **Química Nova na Escola**. v. 36, nº 4, p. 252-260, 2014.

MAGALHÃES, P. J. C.; CRIDDLE, D. N.; TAVARES, R. A.; MELO, E. M.; MOTA, T. L.; LEAL-CARDOSO, J. H. Intestinal myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* and its constituents cineole, methyl-eugenol and terpineol. **Phytotherapy Research**, v. 12, p. 172-177, 1998.

MALERBO-SOUZA, D. T.; TOLEDO, V. de A. de; SILVA, S. R. da; SOUSA, F. F. PolinizaÁ,õ em flores de abacateiro (*Persea americana* Mill.). **Acta Scientiarum**, Maring-, v. 22, n. 4, p. 937-941, 2000.

MALERBO-SOUZA, D. T.; COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. Polinização em cultura de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck, var. *Pera-rio*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, n. 1/6, p. 237-242, 2003.

MARCUCCI MC. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Quim Nova** 19: 529-536, 1996.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacological reviews**, v. 52, n. 4, p. 673–751, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11121513>>.

MICHENER, C. D. 1974. *The Social Behavior of the Bees - A Comparative Study*. Cambridge: Harvard University Press, 404 p.

MOURE, J. S. 1961. A preliminary supra-specific classification of the old world Meliponine bees (Hymenoptera, Apoidea). *Studia Entomologica*, 4, 181-242.

MOTA, M. O. S.; NOGUEIRA-COUTO, R. H. Polinização entomófila em pêssego (*Prunus persica* L.). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 124-128, 2002.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**, 1997 São Paulo: Ed. Nogueirapis, 446 p.

NOGUEIRA-NETO, P. 1970. A Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão (Meliponinae). 2a . ed. São Paulo: Ed. Chácaras e Quintais, 365 p.

OLIVEIRA, George Layson da Silva. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 36-44, 2015

PARK, Younk K. et al. Antimicrobial activity of propolis on different oral bacteria. **Current Microbiology**, v. 36, n. 15, p. 24–28, 1997.

PEIXOTO-NEVES, D.; SILVA-ALVES, K. S.; GOMES, M. D.; LIMA, F. C.; LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P. J.; CECCATTO, V. M.; COELHO-DE-SOUZA, A. N.; LEAL-CARDOSO, J. H. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. **Fundamental Clinical Pharmacology**, v. 24, p.341-350, 2010.

PIANARO, ADRIANA. Ecologia química de abelhas brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides*. 2007. 132f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/248852>>. Acesso em: 10 Nov. 2021.

RAHMAN, I.; BISWAS, S.; KODE, A. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. **European Journal of Pharmacology**, v. 533, p. 222, 2006.

RIBEIRO, Maria de Fátima. Bioma Caatinga. **AGEITEC**, 2022. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/bioma_caatinga/arvore/CONT000g5twqqzq02wx5ok01edq5s5hfa3sp.html> Acesso em: 06/02/2022.

RIBEIRO, M. F.; Abelha Irapuá (*Trigona spinipes*): comportamento polinizador e destrutivo e em plantas nativas e cultivadas In: SEMANA DOS POLINIZADORES, Petrolina: **Embrapa Semiárido**, p. 72-82, 2010.

ROCHA, M. P. et al. Longitudinal differentiation in *Melipona mandacaia* (Hymenoptera, Meliponini) chromosomes. **Hereditas**, v. 138, n. 2, p. 133–137, 2003.

SANTISTEBAN, ROGELIO et al.; ANÁLISES MELISSOPALINOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS, ATIVIDADE ANTIRRADICALAR E PERFIL QUÍMICO POR UPLC-DAD-QTOF-MS/MS DOS MÉIS DE *Frieseomelitta doederleini* (ABELHA BRANCA): COMPARAÇÃO COM OS FENÓLICOS PRESENTES NAS FLORES DE *Mimosa tenuiflora* (JUREMA PRETA). **QUIMICA NOVA**, v. 42, p. 874-884, 2019.

SANTISTEBAN, Rogelio Moreno. Estudo químico de méis apícolas, meliponícolas e da resina de *Mycrodruon urundeuva* coletados na Caatinga, Nordeste do Brasil. 2019. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

SANTOS, A. B. Abelhas nativas: polinizadores em declínio. **Natureza on line**, v. 8, n. 3, p. 103–106, 2010.

SANTOS, P. C. et al., Pollen spectrum of honey of *Apis mellifera* L. and stingless bees (Hymenoptera: Apidae) from the semi-arid region of Bahia State, Brazil. **Grana**, Stockholm, v. 59, n. 5, p. 377-388, 2020

SILVA, B. B. et al. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 3, p. 313-316, 2008.

SILVA, PAULO RICARDO DA et al. Palynological origin, phenolic content and antioxidant properties of geopropolis collected by *mandacaia* (*Melipona mandacaia*) sting-

less. Revista Caatinga [online]. 2020, v. 33, n. 1 <<https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n126rc>>

SILVA, Ellen Cristina Costa da et al . Constituintes fenólicos e atividade antioxidante da geoprópolis de duas espécies de abelhas sem ferrão amazônicas. **Química Nova**, São Paulo , v. 36, n. 5, p. 628-633, 2013 . <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000500003>.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. v. 15, p. 71-81, 2002.

SOUZA, Bartolomeu Israel de; ARTIGAS, Rafael Cámara; LIMA, Eduardo Rodrigues Viana de. Caatinga e desertificação. **Mercator (Fortaleza)** , v. 14, p. 131-150, 2015.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. 2007. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, 30(2): 351-355

SOUZA, B. D. A. et al. **SÉRIE MELIPONICULTURA - N o 07**, 2009.

SOUZA, S. A. *Estudo Química, Atividade Antinoceptiva, Antifúngica e Potencial Antioxidante da Geoprópolis Produzida pela Jandaíra (Melipona subnitida DUCKE)* 2016. Tese (Doutorado em Biociência Animal) – UFRPE, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

VARGAS AC, LOGUERCIO AP, WITT NM, DA COSTA MM, SÁ E SILVA M, VIANA LR. Atividade antimicrobiana "in vitro" de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural** 34: 159-163, 2004.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: main analytical methods for their determination. **Química Nova**, v. 30, p. 1323, 2007.

VIT-OLIVIER, P.; ODDO, L. P.; MARANO, M. L.; SALAS DE MEJIAS, E.; **Apidologie** 1998, 29, 377

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**. v. 26, n° 3, p. 390-400, 2003

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P. E.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 36, n. 7, p. 838–849, 2004.

ZANON, SIBÉLIA. **Importantes para vários cultivos, abelhas nativas do Brasil sofrem ameaças – da própria agricultura**. Mongabay, 21 maio 2020. Disponível em: <https://brasil.mongabay.com/2020/05/importantes-para-varios-cultivos-abelhas-nativas-do-brasil-sofrem-ameacas-da-propria-agricultura/>. Acesso em: 10 maio 2022.