UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

GIOVANNA YASMIN MOKARZEL BIFFI

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM MEL DE ABELHA SEM FERRÃO

CAMPO MOURÃO

2021

GIOVANNA YASMIN MOKARZEL BIFFI

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM MEL DE ABELHA SEM FERRÃO

Determination of antioxidant compounds in stingless bee honey

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Prof.ª. Drª. Eliane Sloboda Rigobello.

CAMPO MOURÃO

2021

GIOVANNA YASMIN MOKARZEL BIFFI

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM MEL DE ABELHA SEM FERRÃO

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 10/agosto/2021

Eliane Sloboda Rigobello
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Marcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Aline Takaoka Alves Baptista
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

CAMPO MOURÃO

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar tantas forças para continuar, por cuidar de mim, por me iluminar e acima de tudo por cuidar da minha mãe que hoje está ao seu lado.

Agradeço a minha mãe, Vera Helena Mokarzel, mais do que um agradecimento eu quero homenagear ela, pela mulher incrível que ela foi, por todos os ensinamentos que ela me passou, todo o amor, todo o carinho e cuidado. Foi a pessoa mais incrível que eu conheci em toda a minha vida, e por uma benção foi a minha mãe. Por tudo que ela fez, por ter me ensinados valores, sempre ter me incentivado a estudar e acima de tudo sonhar e nunca desistir. Ela foi a mulher mais incrível e guerreira que eu conheci e lutou até o último minuto da sua vida. Sempre me deu forças, alegrias e momentos incríveis, nunca mediu esforços para proporcionar o melhor para mim e para o meu irmão. Não tenho palavras para demonstrar minha gratidão e admiração para essa mulher, quero poder honrar ela e ser uma pessoa incrível assim como ela foi ao longo de sua vida. Sei que Deus está cuidando de ti por mim, te amo mamãe!

Agradeço ao meu irmão, Julio José Mokarzel Biffi, que é a minha família, quase um irmão gêmeo, meu grude desde que eu nasci, me ensinou muitas coisas, e continua me ensinando. Foi meu parceiro durante a graduação, estudamos e brigamos muitas vezes. Um menino de coração enorme, que agradeço por fazer parte da minha vida, por me ajudar em todos os momentos, por compartilhar alegrias, por crescer junto comigo e cuidar de mim. Sei que Deus está guardando o melhor para nós, e que juntos somos muito melhores, obrigada por tudo!

Agradeço ao meu namorado, Guilherme Zago Canesin, por ser meu parceiro da vida, por estar sempre comigo, ao meu lado, em todos os momentos, por me ajudar, me aguentar, me alegrar e me incentivar sempre. Por todo o apoio, carinho, amor, risadas e por trazer levezas ao longo de toda a graduação. Além disso, agradeço a minha sogra Edilmara Zago Canesin e ao meu sogro Edimilson Canesin, por todo o carinho, todo o apoio e por me acolherem como parte da família de vocês, sou muito grata por serem tão especiais.

A minha orientadora Eliane Sloboda Rigobello, por me ensinar tanto ao longo da graduação, por ser uma amiga, uma conselheira e uma inspiração. Foi uma

grande honra poder trabalhar com você nos projetos de iniciação e nesse projeto de conclusão de curso. Agradeço a oportunidade que meu deu bem no comecinho da minha graduação, por ter acreditado no meu potencial, por ter confiado em mim e por todo o suporte. Sou muita grata por todos os ensinamentos, pela paciência de ensinar quantas vezes fossem necessárias. Te admiro muito como mulher, como professora, como mãe e como pessoa, é uma grande inspiração para mim!

Agradeço a todos os professores que tive ao longo da minha vida e ao longo da minha graduação em especial a Adriana Droval, Adriana Oliveira, Ailey Tanamati, Angela Gozzo, Angela Mognon, Alberto Vitorio, Alexandre Azevedo, Aline Takaoka Baptista, Augusto Tanamati, Bogdan Demczuk, Eliane Sloboda Rigobello, Elis Fonseca, Evandro Bona, Fernanda Zimmer, Fernanda Leimann, Fernando Vieira, Fábio Scopel, Jeferson Rafael, Josiane Sereia, Karla Silva, Leandro Lago, Rafael Ineu, Leila Marques, Marcelo Real Padro, Mirela Vanin, Márcia Perdoncini, Odinei Hess, Paulo Henrique Março, Paulo Rodrigues, Renata Fuchs, Roberta Leone, Robson Santiago, Rodrigo Tavares, Stéphani Beneti, Wellington Corrêa e Wyrllen de Souza. Todos vocês, ao longo desses anos me passaram ensinamentos além dos que estavam no plano de ensino, todos os aprendizados foram cruciais para que eu chegasse aqui. Agradeço por todos os conselhos, por todas as aulas, e por toda a dedicação. Eu sinto muito orgulho de poder chamá-los de professores, por saber que vocês fizeram parte da minha formação profissional e pessoal. Muitos seguem como amigos e agora como colegas de profissão, sempre serei muito grata a vocês.

Um agradecimento especial a professora Josiane Sereia, por ter fornecido as amostras de mel para o presente estudo e por ter dado toda a ajuda com sua experiencia nessa área de estudos.

Aos meus amigos, por todos os momentos, por serem parte da minha família, por todo o suporte, por todas as risadas, todos os momentos de estudo, de festas, por compartilharem suas dores e alegrias comigo. Quero agradecer especialmente as minhas amigas da graduação Ana Rita, Camila Leme e Hellen Paulino, por toda a parceria, todos os momentos de estudo, de risadas, de bebedeira, todos os trabalhos e provas ao longo da graduação, agradeço por terem feito parte de tudo isso durante a graduação e sei que são amigas que vou levar para a vida.

Agradeço as minhas amigas da vida, que são parte da minha vida desde a infância, Ana Clara Nishimura, Barbara Paglia, Fernanda Reis, Isadora Marques,

Isabela Marques, Natalia Chiara, Maithe Cruz, Mariana Correia, Mariana Leão e Raquel Fernandes. Agradeço também a família de vocês por terem me acolhido como parte da família. Vocês são maravilhosas e eu sou muito grata por ter vocês na minha vida e por poder ter crescido tento vocês ao meu lado, obrigada por todos os momentos.

Aos amigos eu fiz durante a graduação, por serem incríveis e por todos os momentos, por todo o suporte e apoio, Amanda Gardenal, Ana Clara Pereira, Ana Rita Zulim, Camila Leme, Camila Venancio, Giovanni Veneziani Abbatepaulo, Hellen Fernanda Paulino, Jamal Harati, João Guilherme Tsuchiya (Joãoponeis), Lucas Nespeca, Milena Favaro, Keith Ishibashi, Beatriz Freitas, Mariyá Tokuho, Renan Simões, Beatriz Sarris, Jose Victor Bonifácio, André Monegat, Milto Ferreira, Luiza Tridapalli, Brenda Dall Molin, Bruno Dall Molin, Carlos Shiraishi (Chile), Edmar Theodoro, Gabriel Apolinário, Victoria Biason, Carla Conforto, Danielle Castro, Davyllen Fernandes, Fábio Nakamura, Gustavo Galvão, Jacqueline Carvalho, Lucas Canali, Sérgio Schubert, Fabricio Umezaki (Japa), Letycia Prado, Livia Yunis Casela, Bruna de Gaspari e toda a sua família maravilhosa, em especial a Laura Oliveira Gaspari. Obrigada a todos os meus queridos amigos, por sempre estarem presentes, por sempre me ajudarem, por tornar essa jornada ainda mais incrível.

Agradeço aos lugares que trabalhei durante a graduação para ajudar a pagar as contas e me manter em Campo Mourão, em especial quero agradecer o pessoal do bar Carpe Diem Noctem, onde trabalhei por um tempo e além de pode ganhar um dinheiro extra fiz grandes amigos, Rafael Vidal Rosiello (Rafa), Daniel Ferreira Tomaz (Dani) e Joelma Pacheco (Jô), agradeço imensamente vocês por todos os momentos, por todo o aprendizado, pela companhia e parceria.

Agradeço a minha psicóloga Rebeca, por estar me ajudando a enfrentar, entender e aceitar todo esse processo de luto e todos os demais desafios vividos até o momento.

Por fim, agradeço a UTFPR de Campo Mourão, por ter sido minha segunda casa ao longo dessa jornada, por toda a estrutura, por todos os profissionais que trabalham todos os dias para manter essa universidade funcionando da melhor forma possível, todos os servidores, professores, técnicos e auxiliares. Agradeço a universidade pelo auxílio estudantil, que foi fundamental para tornar a realização desse sonho possível, a todos os profissionais do NUAPE que trabalham para garantir que o auxílio possa continuar ajudando tantos estudantes.

RESUMO

O mel de abelha sem ferrão é um produto que desempenha um importante papel na saúde humana e possui características peculiares como seu sabor suave, aroma e excelente potencial nutracêutico. As características do mel podem ser alteradas por diferentes fatores como pela disponibilidade de recursos florais e oscilações climáticas. O objetivo desse trabalho foi analisar os compostos bioativos fenólicos totais, flavonoides totais e a atividade antioxidante pelo método DPPH em diferentes amostras de mel produzidos por abelhas sem ferrão *Scaptotrigona bipunctata*. Os extratos de mel (0,8 g mel mL^{-1} H2O) foram analisadas quanto ao teor de fenólicos totais com padrão de ácido gálico, flavonoides totais com o padrão de catequina, e a atividade antioxidante pelo método de DPPH com o padrão de trolox, em espectrofotômetro UV/Vis. As concentrações de fenólicos totais variaram de 43,00 a 100,03 mg EAG 100 g^{-1}, as concentrações de flavonoides totais de 2,45 a 14,28 mg EC 100 g^{-1} e a atividade antioxidante de 16,17 a 79,86 µmol ET 100 g^{-1}. Nessas amostras foram comparadas as concentrações de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante aplicando a análise de componentes principais (PCA). Com base nessa análise, foi possível distinguir as amostras com 3 componentes principais, cada um com o seu peso na variância total dos dados. As amostras coletadas no verão foram as que apresentaram os maiores valores tanto para fenólicos totais quanto para flavonoides totais, verificado também pela análise de PCA, o que pode ser explicado por ser uma época com excelentes recursos florais. Já para a atividade antioxidante ao longo de todas as coletas os valores se mantiveram de forma semelhante.

Palavras-chave: mel; abelha sem ferrão; compostos bioativos; *Scaptotrigona bipunctata.*

ABSTRACT

Stingless bee honey is a product that plays an important role in human health and has peculiar characteristics such as its mild taste, aroma, and excellent nutraceutical potential. The honey's characteristics can be altered by different factors such as the availability of floral resources and climate oscillations. The aim of this work was to analyze the total phenolic bioactive compounds, total flavonoids and the antioxidant activity by the DPPH method in different honey samples produced by stingless bees *Scaptotrigona bipunctata*. The honey extracts (0.8 g honey mL^{-1} H2O) were analyzed for total phenolic content with gallic acid standard, total flavonoids with catechin standard, and antioxidant activity by DPPH method with trolox standard, in UV/Vis spectrophotometer. The total phenolic concentrations ranged from 43.00 to 100.03 mg EAG 100 g^{-1}, total flavonoid concentrations from 2.45 to 14.28 mg EC 100 g^{-1} and antioxidant activity from 16.17 to 79.86 µmol ET 100 g^{-1}. In these samples the concentrations of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity were compared by applying principal component analysis (PCA). Based on this analysis, it was possible to distinguish the samples with 3 principal components, each with its weight in the total variance of the data. The samples collected in the summer were the ones that presented the highest values both for total phenolics and total flavonoids, also verified by PCA analysis, which can be explained by being a season with excellent floral resources. As for antioxidant activity throughout all collections the values remained similar.

Keywords: honey; stingless bee; bioactive compounds; *Scaptotrigona bipunctata*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura básica de um flavonoide 21
Figura 2 - Amostras de mel de abelhas da espécie *Scaptotrigona bipunctata* coletadas em diferentes épocas do ano 24
Figura 3 - Curva padrão de ácido gálico para a concentração de fenólicos totais. ...28
Figura 4 - Curva padrão de catequina para a concentração de flavonoides. 29
Figura 5 - Curva padrão de trolox para a concentração atividade antioxidante.....30
Figura 6 - Análise dos Componentes Principais (PC1 x PC2) das concentrações de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante (DPPH) 37
Figura 7 - Análise dos Componentes Principais (PC1 x PC3) das concentrações de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante (DPPH) 38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados de precisão e exatidão para níveis de concentração da curva analítica de Ácido Gálico para fenólicos. 28
Tabela 2 - Resultados de precisão e exatidão para os níveis de concentração da curva analítica de Catequina para Flavonoides 29
Tabela 3 - Resultados de precisão e exatidão para os níveis de concentração da curva analítica de Trolox para atividade antioxidante pelo método de DPPH 29
Tabela 4 - Valores médios com desvio padrão (DP) de fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de mel de abelha sem ferrão *Scaptotrigona bipunctata* 31
Tabela 5 - Recuperação e exatidão em três níveis de concentração em estudo de fenólicos totais 35
Tabela 6 - Recuperação e exatidão em três níveis de concentração em estudo de flavonoides totais 35
Tabela 7 - Correspondência do peso de cada componente 36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
1.1 Objetivos 15
1.1.1 Objetivo geral 15
1.1.2 Objetivos específicos 15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 16
2.1 Abelhas sem ferrão 16
2.2 Mel 17
2.3 Antioxidantes 18
2.3.1 Fenólicos totais 19
2.3.2 Flavonoides 20
2.3.3 Atividade Antioxidante 21
2.4 Métodos para análise dos compostos bioativos e antioxidantes 21
2.4.1 Método Folin-Ciocalteu para Fenólicos Totais 21
2.4.2 Método do cloreto de alumínio para flavonoides 22
2.4.3 Método DPPH 22
3 METODOLOGIA 23
3.1 Solventes e reagents 23
3.2 Amostragem 23
3.3 Determinação de compostos fenólicos totais 24
3.4 Determinação de flavonoides totais 25
3.5 Capacidade antioxidante 26
3.5.1 Determinação DPPH 26
3.6 Recuperação e exatidão do método 26
3.7 Análise estatística dos dados 27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 28
4.1 Resultados fenólicos totais 33
4.2 Resultados flavonoides totais 34
4.3 Resultados DPPH 34
4.4 Recuperação e exatidão dos métodos 35
4.5 Análise dos componentes principais 36
5 CONCLUSÃO 39
REFERÊNCIAS 40

1 INTRODUÇÃO

No século XIX no Brasil, antes da introdução da abelha europeia, da espécie *Apis mellifera*, os meliponíneos, também conhecidos como abelhas nativas e sem ferrão, eram as únicas espécies de abelhas produtoras de mel no país (KERR *et al*., 2006).

Os meliponíneos, ocupam em grande parte as regiões de clima tropical e subtropical do mundo, essas abelhas possuem um papel de extrema importância na biodiversidade vegetal (OLIVEIRA *et al*., 2013). A tribo Meliponini possui uma abundância em todo o Brasil, sendo mais de 400 espécies conhecidas (SILVEIRA *et al*., 2002).

A abelha *Scaptotrigona bipunctata* encontra-se dentro da tribo Meliponini, sendo conhecida popularmente como tubuna, por possuir uma característica marcante de construir na entrada de seus ninhos tubos, que permitem a passagem de várias abelhas simultaneamente (BLOCHTEN *et al*., 2008). Essas abelhas possuem um comportamento defensivo agressivo, são conhecidas por se enrolarem nos cabelos e pelos do inimigo e liberarem um forte odor quando se sentem ameaçadas (BARROS, 2013).

Segundo a resolução nº 12 de 1978 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA), o mel é o produto natural elaborado por abelhas a partir de néctar de flores e exsudatos sacarínicos de plantas. O seu aspecto é um líquido denso, viscoso, translúcido ou parcialmente cristalizado. O mel não pode conter substâncias estranhas a sua composição normal, nem ser adicionado de corretivos de acidez, além disso o mesmo pode se apresentar parcialmente cristalizado e é proibida a adição de corantes, aromatizantes, espessantes, conservadores e edulcorantes, tanto naturais quanto sintéticos (BRASIL, 1978).

O mel produzido pelos meliponíneos, mesmo produzindo uma menor quantidade quando comparados ao mel de *A. mellifera*, é um produto diferenciado quanto ao teor de ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas, flavonoides, minerais e compostos bioativos, que contribuem para o aroma, cor e sabor específico (CARVALHO, *et al*., 2005).

As abelhas sem ferrão além de produzirem um mel muito saboroso produzem um mel bastante conhecido e consumido em virtude de suas propriedades terapêuticas, sendo utilizado para o tratamento de algumas doenças como asma,

gripe, tosse, dor de garganta e problemas gastrointestinais (COSTA-NETO; PACHECO, 2005; VILLAS-BÔAS, 2018).

Uma das classes de compostos com atividade antioxidante presente no mel são os antioxidantes não enzimáticos, como o ácido ascórbico, compostos fenólicos e os carotenoides (KUÇUK *et al*., 2007; SUHAG, 2016). Entre os componentes do mel, os compostos fenólicos são os principais responsáveis pelo seu efeito antioxidante, sendo encontrados nos flavonóis, flavonas, flavononas, ácidos benzoicos e cinâmicos (BIESAGA; PYRZYNKA, 2009). Cada constituinte possui propriedades nutricionais e medicinais únicas e os componentes agem sinergicamente, fazendo com que o mel tenha utilidade em uma variedade de aplicações (VIT *et al*., 2015).

O mel produzido por abelhas sem ferrão é considerado um produto apícola valioso, tem sido tradicionalmente consumido diretamente e usado em inúmeras práticas médicas. Em ambos os casos, o mel é colhido diretamente da floresta ou em meliponários já estabelecidos (SOUZA *et al*., 2006).

O Brasil possui apenas uma legislação nacional responsável pela regulamentação do mel, que estabelece padrões de identidade e qualidade, a Instrução Normativa nº 11 de 2000 (MAPA). Porém essa legislação é apenas para o mel produzido por abelhas *Apis mellifera*, não sendo aplicáveis para os méis produzidos por abelhas sem ferrão, pois esses méis possuem características consideradas peculiares, os quais deveriam ser regulamentados por uma legislação específica (BRASIL, 2000).

No momento atual, existem algumas legislações estaduais para o mel de abelha sem ferrão, como por exemplo a Portaria nº 63 de 10 de março de 2017 da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Paraná, que estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel de abelhas sem ferrão para o estado do Paraná (BRASIL, 2017).

Neste contexto, esse trabalho teve como objetivo determinar compostos antioxidantes de 38 amostras de mel de abelha sem ferrão da espécie *Scaptotrigona bipunctata,* oriundas de 14 colônias provenientes da região de Mandirituba – PR.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Quantificar compostos antioxidantes de 38 amostras de mel de abelhas sem ferrão da espécie *Scaptotrigona bipunctata.*

1.1.2 Objetivos específicos

- Quantificar o teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante pelo método de DPPH;
- Avaliar a recuperação e exatidão do método;
- Fazer estudo estatístico para avaliar as diferenças e semelhanças das amostras a partir da Análise de Componentes Principais (PCA).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Abelhas sem ferrão

A meliponicultura é uma prática antiga, feita pelos povos indígenas, antes da colonização do Brasil. Gradativamente, a criação das abelhas nativas se difundiu, tornando-se uma tradição popular (VILLAS-BÔAS, 2018).

Os meliponíneos pertencem à família *Apidae*, subfamília *Meliponinae* e divide-se em duas tribos: a Meliponini e a Trigonini (BALLIVIÁN, 2008).

Dentro da tribo Meliponini, encontram-se as abelhas pertencentes ao gênero *Scaptotrigona*. As características comportamentais das abelhas desse gênero são muito parecidas com as suas diferentes espécies, isso faz com que haja uma grande dificuldade em identificá-las (SILVEIRA *et al*., 2002).

Por apresentarem uma característica marcante na entrada do ninho em forma de funil, que pode variar o comprimento e a largura de acordo com cada espécie, essas abelhas são popularmente conhecidas como Tubuna, Canudo, Mandaguari, Tubi e Tubiba (BLOCHTEN *et al*., 2008).

Os meliponíneos, além de serem grandes responsáveis pela polinização apresentam produtos e subprodutos economicamente valorizados, como mel, cera, própolis, pólen, geoprópolis, os quais são atrativos para a sua criação regional. Além disso, por se adaptarem para coleta de recursos florais são consideradas excelentes polinizadores, muitas vezes específicos de certas culturas (MORITZ *et al*., 2010).

Apesar da meliponicultura possuir uma produtividade menor do que a apicultura, o Brasil possui uma grande diversidade de espécies de abelhas sem ferrão, uma larga extensão territorial e um clima propício para esse cultivo, a qual tem se tornado uma atividade econômica em potencial e o país pode ser destaque (YAMAMOTO *et al*., 2010; SILVA *et al*., 2013; RAMÓN-SIERRA *et al*., 2015; BILUCA *et al*., 2017).

2.2 Mel

Há diversos tipos de mel produzidos, os mais conhecidos e encontrados no mercado atualmente são os de abelha do tipo *Apis*, sendo a espécie *A. mellifera*, popularmente conhecidas como europeias, italianas ou africanas, a mais popular. Porém, antes da chegada da abelha *Apis mellifera* no continente americano, o mel das abelhas sem ferrão ou melíponas, consideradas nativas, já era cultivado pela população local, sendo a principal fonte de adoçante natural (VILLAS-BÔAS, 2018).

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2000) e o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel do Mercosul (MERCOSUL, 1999) o mel possui a seguinte definição:

> [...] produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia (BRASIL, 2000; MERCOSUL, 1999).

A ausência de padrões de controle de qualidade e o pouco conhecimento sobre o produto faz com que a produção de mel de abelhas sem ferrão seja limitada quando comparada à produção de mel de *Apis mellifera*. As abelhas sem ferrão produzem em média de 1-5 kg de mel por colmeia (dependendo da espécie) em comparação com as *Apis mellifera,* que são as líderes mundiais na produção de mel, produzem em média 20 kg de mel por colmeia. Entretanto o mel de abelha sem ferrão tem um preço significativamente maior em relação ao mel de *A. mellifera* (ZUCCATO *et al*., 2017).

As abelhas sem ferrão produzem um mel que possui características diferentes, como um sabor suave, levemente ácido, teores de açucares menores e características particulares consideradas exóticas.

O mel é uma fonte natural rica em compostos importante para a saúde humana, principalmente devido à presença de compostos fenólicos, antioxidantes, flavonoides, ácidos orgânicos, aminoácidos e compostos derivados de carotenoides. (SUHAG, 2016).

Os benefícios do mel das abelhas sem ferrão atuam no tratamento de inflamações, infecções, cicatrização de feridas, doenças renais e no tratamento de tumores (ZUCCATO *et al*., 2017).

Segundo Souza *et al*. (2018), todos os compostos bioativos presentes no mel de abelha do tipo *Apis* também podem ser encontrados nas de abelhas sem ferrão, em ambos os compostos fenólicos dependem da sua origem botânica. As características do mel das abelhas nativas podem mudar ao longo do ano, devido a diferentes fatores como a disponibilidade de recursos florais como pólen, néctar e resina, oscilações climáticas, distância entra a colônia e as espécies de plantas em floração, além de competição por outras espécies de abelhas (SILVA *et al*., 2013a). Dentre as características, pode alterar o sabor, a cor, o aroma, a textura e suas propriedades antioxidantes (d. COSTA *et al*., 2018).

No estudo de Ávila *et al*. (2019) analisou-se o teor de compostos bioativos, propriedades físico-químicas, atividade antioxidante e antimicrobiana em mel de abelhas sem ferrão de diferentes espécies brasileiras, sendo elas *Melipona quadrifasciata, Melipona marginata, Melipona bicolor e Scapotrigona bipunctata*. Com base neste estudo, os autores identificaram diferenças consideráveis nas propriedades biológicas, nos parâmetros físico-químicos e palinológicos. Por meio de estudo quimiométrico verificou-se que as propriedades químicas e biológicas do mel de abelhas sem ferrão têm uma forte relação com a origem botânica do pólen. Em geral as amostras de mel de abelhas sem ferrão apresentaram valores mais elevados de compostos fenólicos, atividade antioxidante e antimicrobiana quando comparados a mel de abelhas do tipo *Apis mellifera.*

2.3 Antioxidantes

Os radicais livres são moléculas ou átomos que possuem a estrutura química com um ou mais elétrons desemparelhados em seus orbitais externos. Isso faz com que eles fiquem altamente instáveis e reativos, permitindo a transferência de elétrons para moléculas vizinhas. Buscando estabilidade esses elétrons podem reagir com a maioria dos compostos orgânicos, causando a oxidação desses compostos. Os radicais livres são produzidos naturalmente pelo metabolismo de seres vivos, e sua presença está associada ao envelhecimento precoce, inflamações

e ao surgimento de doenças cardiovasculares e câncer (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

As substâncias antioxidantes são compostos químicos que possuem a capacidade de agir impedindo a oxidação de outros compostos, com isso podem contribuir para combater esses radicais, evitando assim a propagação dos radicais livres. Os antioxidantes são produzidos pelo corpo ou ingeridos através do consumo de alimentos que contenham esses compostos (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

2.3.1 Fenólicos totais

A identificação e a quantificação dos compostos fenólicos no mel são de grande interesse, uma vez que contribuem para as propriedades sensoriais como cor, aroma, adstringência e propriedades antioxidantes do mel, refletindo diretamente na qualidade do mel. Os principais polifenóis encontrados no mel são os flavonoides, principalmente a quercetina, luteolina, kamferol, apigenina, chrisina, galangina, os ácidos fenólicos como o ácido abscísico, elágico, para-cumárico, gálico e ferulico, além de derivados de ácidos fenólicos (MEO *et al*., 2017; PEREIRA, 2010).

Os compostos fenólicos são dados como os principais responsáveis pelo efeito antioxidante no mel, podendo ser encontrados flavonóis, flavonas, flavononas, ácidos benzoicos e cinâmicos (BIESAGA; PYRZYNKA, 2009).

Os compostos fenólicos possuem várias atividades bioquímicas como a capacidade antioxidante, antimutagênica e anticarcinogênica. Sua capacidade antioxidante está altamente ligada à estrutura química de suas substâncias, por esse motivo os flavonoides, taninos, calçonas, cumarinas e ácidos fenólicos possuem destaque (MARINOVA, *et al*., 2005; MORALES-GONZÁLEZ, 2013).

Biluca *et al*. (2016) estudaram diferentes amostras de mel de abelhas sem ferrão do estado de Santa Catarina e encontraram um teor de compostos fenólicos totais que variaram de 10,3 a 98 mg EAG 100 g^{-1}. Dentre as espécies estudadas pelos autores estão *Melipona bicolor, Scapotrigona bipunctata, Melipona quadriasciata, Melipona marginata, Tetragonisca angustula, Melipona mondury, Melipona rufivestris mondory, Tetragina clavipes, Melipona scutellaris, Trigona fuscipennis*. As amostras das espécies *M. quadriasciata* apresentaram os valores

mais baixos, enquanto a amostra da espécie *T. angustula* apresentou o maior valor. Estudos semelhantes realizados por Silva *et al*. (2013b) para méis de abelha sem ferrão oriundos da Paraíba e da Amazônia, apresentaram valores de 1,3 a 66,0 mg EAG 100 g^{-1}. As diferentes espécies, origens botânicas e geográficas das amostras podem explicar a variação.

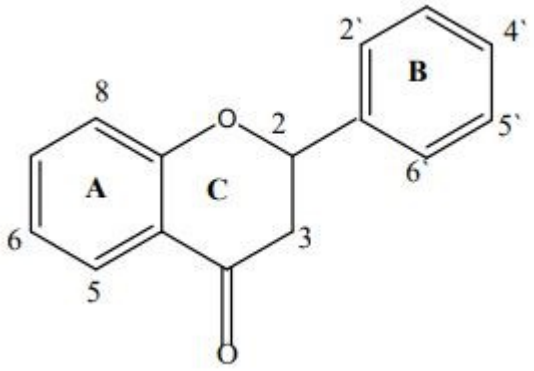
2.3.2 Flavonoides

O termo flavonoide vem do latim “flavus”, que significa amarelo, esse termo defina uma classe de substâncias que durante muito tempo foi conhecida como “pigmento das flores”. Porém observa-se que os grupos flavonoides são incolores e que a classe das antocianinas possui várias substâncias que os seus espectros são de uma colocarão variando do verde ao azul. Os flavonoides possuem uma participação especial no crescimento, desenvolvimento e defesa dos organismos vegetais, estão concentrados principalmente nas sementes, frutos, cascas, raízes, folhas e flores (FELDMANN, 2001).

Estruturalmente, os flavonoides constituem substâncias aromáticas com um núcleo fundamental constituído de quinze átomos de carbono (C15), são compostos fenólicos que possuem em sua estrutura três anéis aromáticos (C6-C3-C6), sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica C) acoplado ao anel A, como mostrado na Figura 1 (KUMAR; PANDEY, 2013).

Estudos feitos por Sousa *et al*. (2016), apresentam valores de 1,9 a 4,2 mg EC 100 g^{-1} para méis de abelha sem ferrão do Rio Grande do Norte e da Paraíba. Outros estudos feitos por Duarte *et al*. (2018), com méis de abelhas sem ferrão do Alagoas, apresentam valores de 8 a 55 mg EC 100 g^{-1}, sendo a amostra da espécie *Tetragona clavipes* a que apresentou maior valor, enquanto a *Melipona asilvai* apresentou o menor valor.

Figura 1 - Estrutura básica de um flavonoide



Fonte: (KUMAR; PANDEY, 2013)

2.3.3 Atividade Antioxidante

O efeito antioxidante do mel se dá principalmente pelos compostos fenólicos presentes no mel, os quais são provenientes do néctar das plantas que as abelhas coletam (BIESAGA; PYRZYNKA, 2009). Para a determinação da atividade antioxidante, podem-se utilizar diferentes métodos que consistem na transferência de elétrons de um antioxidante para um radical livre como o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), esse método é muito utilizado na determinação do efeito e ação antioxidante de diversos alimentos, pois pode ser utilizado para alimentos líquidos ou sólidos, além disso não apresenta especificidade para nenhum antioxidante específico (MONIRUZZAMAN *et al*., 2012).

2.4 Métodos para análise dos compostos bioativos e antioxidantes

2.4.1 Método Folin-Ciocalteu para Fenólicos Totais

O ensaio com reagente Folin-Ciocalteu tem sido utilizado por muitos anos pela indústria agrícola e alimentícia para a determinação do conteúdo de fenólicos em produtos naturais (PRIOR *et al*., 2005). O reagente Folin-Ciocalteu consiste na mistura de fosfomolibdato, fosfotungstato e outros reagentes. Na reação com compostos fenólicos, ele produz coloração azul devido à espécie complexada de molibdênio e absorbe a 765 nm (EVERETTE *et al*., 2010). Sigleton e Rossi (1965) melhoraram o método analítico com o uso de ácido gálico como fenol padrão. Os

autores concluíram ainda que comparado a outros métodos, empregando-se o reagente Folin-Ciocalteu produzia resultados previsíveis para ampla variedade de fenólicos.

2.4.2 Método do cloreto de alumínio para flavonoides

O método de quantificação de flavonoides por espectrofotometria UV/Vis com o cloreto de alumínio é uma técnica acessível, prática e menos onerosa em relação às outras. Na reação, o íon alumínio (Al^{3+}) complexa-se com as moléculas de flavonoides da amostra, estabelecendo o complexo estável flavonoide-Al^{3+} de coloração amarela cuja intensidade é proporcional à concentração de flavonoides presente na amostra. Esta complexação promove a intensificação das absorções, permitindo o monitoramento dos flavonoides a um comprimento de onda de 510 nm, sem que ocorra interferência de outros compostos fenólicos (PEIXOTO *et al*., 2012).

2.4.3 Método DPPH

A atividade antioxidante em alimentos tem sido determinada pelo método DPPH, que não apresenta especificidade para nenhum antioxidante específico, além disso, é considerado rápido e preciso e pode ser utilizado tanto em amostras liquidas quanto solidas (MONIRUZZAMAN *et al*., 2012).

O método DPPH é baseado na transferência de elétrons de um antioxidante ou uma espécie radicalar para a molécula de 2,2-diphenil-1-picrilhidrazil (DPPH) de cor púrpura, qual é reduzido a difenil-picril-hidrazina de coloração amarela. Consequentemente ocorre a redução da absorbância dessa molécula podendo então ser monitorado por espectrofotômetro UV-Vis a um comprimento de onda de 515 nm (ROESLER *et al*., 2007). A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (BORGES *et al*., 2011).

O método de DPPH é indireto e visa determinar o potencial antioxidante de compostos fenólicos isolados, em alimentos. Esse método possui a vantagem de não envolver condições drásticas de temperatura e oxigenação (BUTERA *et al*., 2002).

3 METODOLOGIA

3.1 Solventes e reagents

Os solventes e reagentes empregados na extração e nas determinações analíticas foram: água purificada pelo sistema de osmose reversa, metanol 99,8%, hidróxido de sódio PA, carbonato de sódio aquoso, nitrito de sódio PA, cloreto de alumínio PA, reagente Folin-Ciocaulteu, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), catequina hidratada 98%, ácido gálico PA, 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico (Trolox) da marca SIGMA. Todos os reagentes utilizados foram de elevada pureza.

3.2 Amostragem

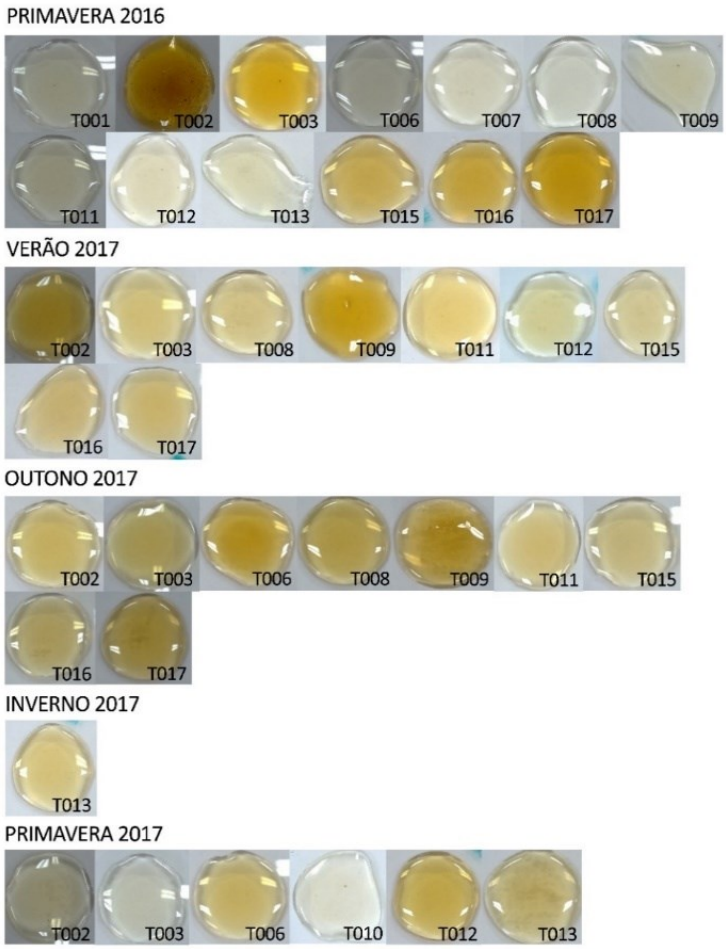
As amostras de méis foram produzidas e coletados no período de dezembro de 2016 a novembro de 2017, na Fazenda Experimental de Iguatemi – FEI/UEM (Universidade Estadual de Maringá), Maringá – Paraná. Foi desenvolvido no setor de apicultura e meliponicultura, localizado na latitude de 23° 25'S, longitude 51°57' O, e 550 metros de altitude.

A fazenda possui vegetação típica da mata atlântica, com abundância de recursos florais apícolas, sendo o clima caracterizado como subtropical temperado, com temperatura média anual de 22 °C, e semiúmido, com média de 1.500 mm anuais de chuva.

Para a coleta das amostras de mel de abelhas da espécie *Scaptotrigona bipunctata*, foram acompanhadas 14 colônias provenientes da região de Mandirituba - PR, dispostas em colmeias racionais, modelo INPA (OLIVEIRA; KERR/INPA, 2000). Durante o período de coleta, não foram todas as colônias de meliponário que produziram mel suficiente destinada às análises realizadas. Foram realizadas cinco coletas de mel, sendo a primeira realizada em 13 das 14 colônias na primavera, a segunda coleta realizada em 9 das 14 colônias no verão, a terceira coleta realizada em 9 das 14 colônias no outono, a quarta coleta realizada em 1 das 14 colônias no inverno e a quinta e última coleta realizada em 6 das 14 colônias na primavera do ano seguinte. Totalizando 38 amostras. As amostras ficaram armazenadas em

temperatura de refrigeração até o momento das análises. Cada amostra de mel foi identificada por uma letra e um número (T001 a T017) (Figura 2).

Figura 2 - Amostras de mel de abelhas da espécie *Scaptotrigona bipunctata* coletadas em diferentes épocas do ano



Fonte: Autoria própria (2019)

3.3 Determinação de compostos fenólicos totais

As amostras de mel foram analisadas quanto ao teor de fenólicos totais segundo o método de Folin-Ciocaulteau. Para a sua determinação foram utilizados 30 µL de extrato, 2.370 µL de água e 150 µL do reagente Folin-Ciocaulteau. A solução foi homogeneizada, e após 2 minutos foram adicionados 450 µL de carbonato de sódio 15 % (aq). Após 2 horas, foi feita a leitura da absorbância das amostras em 765 nm (SINGLETON; ROSSI, 1965). Para a quantificação do teor de fenólicos totais, foi usada uma curva padrão de ácido gálico (AG), com os valores de concentração de 45, 75, 180, 330, 630, 930, 1200 e 1500 mg L^{-1}. Os resultados nas

amostras de mel foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra (mg EAG 100 g^{-1}).

Preparo da solução inicial de mel: as soluções de mel foram preparadas com concentração de 0,8 g de mel mL^{-1} de água. Desta solução de mel, transferiu-se adequadamente em triplicatas 30 µL para tubos de ensaio protegidos com papel alumínio (no branco metanol); 2.370 µL de água destilada e 150 µL do reagente Folin-Ciocaulteau para tubos de ensaio protegidos com papel alumínio (no branco adicionou-se água). Após dois minutos, foi adicionado 450 µL de carbonato de sódio a 15%. Os tubos foram fechados e mantidos por duas horas em temperatura ambiente, no escuro. Mediu-se as absorbâncias em cubetas de quartzo, em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 765 nm.

Cálculo dos compostos fenólicos: usando os valores de absorbâncias (y) e a equação da reta, calculou-se os valores de x, que correspondem ao teor de fenóis totais em EAG L^{-1}; usando os valores de fenóis totais em EAG L^{-1} de solução mãe de ácido gálico, calculou-se os valores correspondentes em 10 mL da solução de mel utilizada (que contém 0,8 g de mel mL^{-1}). A partir destes resultados, calculou-se a concentração de fenóis totais em EAG 100 g^{-1} de mel.

3.4 Determinação de flavonoides totais

Para a análise do teor de flavonoides, foram utilizados 250 µL de amostra de mel diluída (0,8 g de mel mL^{-1} de água), 1000 µL de água e 75 µL de nitrito de sódio 5% (aq), após 5 minutos foram adicionados 75 µL de cloreto de alumínio 10% (aq) e após 6 minutos adicionou-se 500 µL de hidróxido de sódio 1 mol L^{-1} (aq). A leitura da absorbância das amostras foi feita em 510 nm (ANNEGOWDA *et al*., 2013). Foi usada uma curva padrão de catequina (C), com os valores de concentração de 15, 50, 100, 200, 300, 375, 450 e 500 mg L^{-1}. Os resultados nas amostras de mel foram expressos em miligramas equivalentes de catequina por 100 g de amostra (mg EC 100 g^{-1}).

Preparo da solução inicial de mel: As soluções de mel foram preparadas com concentrações de 0,8 g de mel mL^{-1} de água. Desta solução de mel, transferiu-se em triplicatas 250 µL para tubos de ensaio protegidos com papel alumínio (no branco colocar água); 1000 µL água destilada; 75 µL $NaNO_2$ 5% $_{(aq)}$. Após 5 minutos

adicionou-se 75 µL $AlCl_3$ 10% $_{(aq)}$. Após 6 minutos, foi adicionado 500µL NaOH 1 mol L^{-1} $_{(aq)}$. A leitura das absorbâncias foi realizada imediatamente, em cubetas de quartzo, em espectrofotômetro a 510 nm.

Cálculo dos flavonoides totais: usando os valores de absorbâncias (y) e a equação da reta, calculou-se os respectivos valores de x, que correspondem ao teor de flavonoides totais em QE L^{-1}; usando os valores de flavonoides totais em EQ L^{-1} de solução mãe de catequina calculou-se os valores correspondentes em 10 mL da solução de mel utilizada (que contém 0,4 g de mel mL^{-1}). A partir destes resultados, foi calculada a concentração de flavonoides totais em EQ 100 g^{-1} de mel.

3.5 Capacidade antioxidante

3.5.1 Determinação DPPH

Para realizar as análises foram homogeneizados 100 µL de solução aquosa de mel (0,8 g de mel mL^{-1} de água) e 3900 µL de solução de DPPH 60 µmol L^{-1}. Após 30 minutos, as absorbâncias foram lidas em 515 nm (BRAND-WILLIAMS *et al*., 1995). Foi usada uma curva padrão de trolox (T) com valores de concentração de 50, 275, 500, 700, 850 e 1000 µmol L^{-1}. Os resultados nas amostras de mel foram expressos em micromol equivalentes de trolox por 100 gramas de mel (µmol ET 100 g^{-1}).

3.6 Recuperação e exatidão do método

A recuperação e exatidão do método foi feita apenas para a determinação dos fenólicos totais. Para avaliar a recuperação, os resultados das amostras fortificadas com ácido gálico foram comparados com o padrão teórico, o cálculo da recuperação foi feito em função da concentração da amostra fortificada pela concentração do padrão teórico (Equação 1).

Equação 1

$$Recuperação = \frac{Conc.\ amostra\ fortificada}{Conc.\ padrão\ teórico}\ x\ 100$$

A recuperação e a exatidão do método para a determinação dos fenólicos totais foram determinadas utilizando-se três níveis de concentrações 60, 765 e 960 mg L^{-1}, em triplicata para cada nível de concentração, resultando no total de 15 amostras. Para a determinação dos flavonoides totais foram utilizados outros três níveis de concentrações 30, 240 e 450 mg L^{-1}.

A exatidão foi expressa pela relação entre a concentração determinada experimentalmente (Conc. Prática) e ao nível de concentração teórica correspondente (valor aceito como verdadeiro) não se admitindo valores inferiores a 85% e superiores a 115% (ANVISA, 2003). A exatidão foi calculada por meio da Equação 2.

Equação 2

$$Exatidão = \frac{Conc.\ prática}{Conc.\ teórica}\ x\ 100$$

3.7 Análise estatística dos dados

Após a aquisição dos dados referentes as análises de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante, os dados foram organizados na forma de matrizes de dados. Para a análise estatística dos dados foi utilizado o método de Análise de Componentes Principais (PCA), a fim de verificar as similaridades e diferenças entre as amostras. Para isso, foi utilizado o software past04.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das curvas analíticas para os padrões de calibração estão apresentados na Tabela 1 e Figura 3 para fenólicos totais, na Tabela 2 e Figura 4 para flavonoides totais e na Tabela 3 e Figura 5 para atividade antioxidante pelo método DPPH.

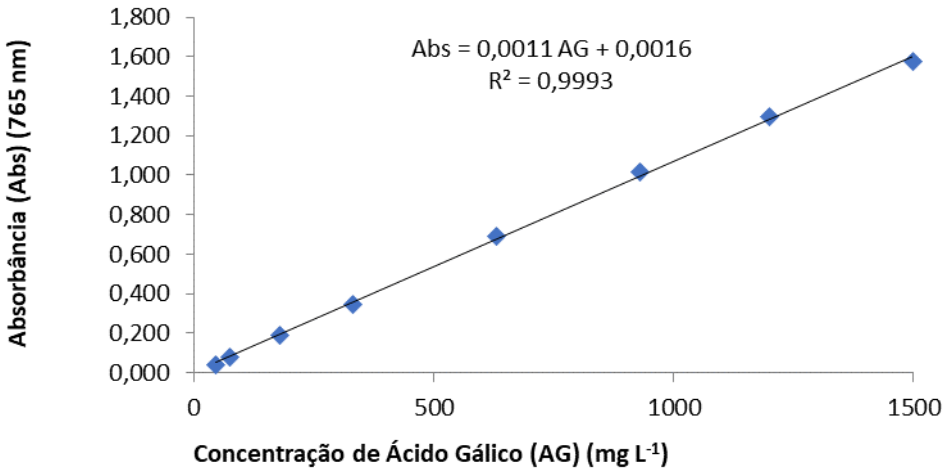
Tabela 1 - Resultados de precisão e exatidão para níveis de concentração da curva analítica de Ácido Gálico para fenólicos.

AG	Absorbância (765 nm)							
(mg L^{-1})	I	II	III	Média	Conc. Prática (mg L^{-1})	Exatidão (%)	DP	DPR (%)
45	0,040	0,049	0,039	0,043	37,3	82,96	0,01	12,9
75	0,073	0,081	0,072	0,075	67,0	89,37	0,00	6,5
180	0,187	0,188	0,193	0,189	170,7	94,81	0,00	1,7
330	0,337	0,351	0,358	0,349	315,5	95,61	0,01	3,1
630	0,699	0,686	0,69	0,692	627,3	99,58	0,01	1,0
930	0,982	1,023	1,037	1,014	920,4	98,96	0,03	2,8
1200	1,269	1,305	1,308	1,294	1174,9	97,91	0,02	1,7
1500	1,547	1,588	1,589	1,575	1430,1	95,34	0,02	1,5

Legenda: AG= Ácido Gálico; DP= Desvio Padrão; DPR= Desvio Padrão Relativo.

Fonte: Autoria própria (2019).

Figura 3 - Curva padrão de ácido gálico para a concentração de fenólicos totais.



Fonte: Autoria própria (2019).

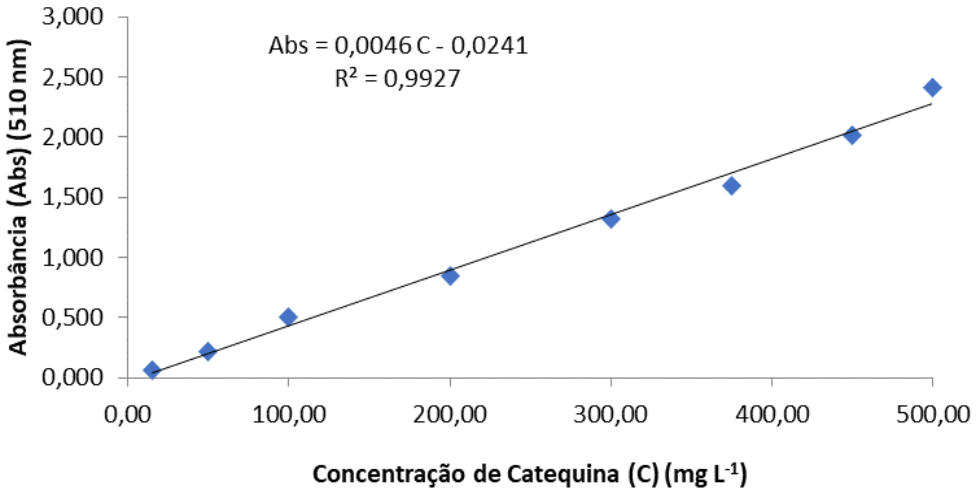
Tabela 2 - Resultados de precisão e exatidão para os níveis de concentração da curva analítica de Catequina para Flavonoides

Catequina	**Absorbância (510 nm)**							
(mg L^{-1})	I	II	III	Média	Conc. Prática (mg L^{-1})	Exatidão (%)	DP	DPR (%)
15,00	0,061	0,061	0,062	0,061	12,79	85,28	0,00	0,94
50,00	0,182	0,235	0,223	0,213	45,84	91,67	0,03	13,03
100,00	0,513	0,511	0,483	0,502	108,66	108,66	0,02	3,34
200,00	0,823	0,858	0,854	0,845	183,15	91,58	0,02	2,27
300,00	1,263	1,342	1,372	1,326	287,65	95,88	0,06	4,25
375,00	1,683	1,533	1,590	1,602	347,72	92,73	0,08	4,73
450,00	1,930	2,044	2,087	2,020	438,66	97,48	0,08	4,02
500,00	2,433	2,315	2,494	2,414	524,24	104,85	0,09	3,77

Legenda: DP= Desvio Padrão; DPR= Desvio Padrão Relativo.

Fonte: Autoria própria (2019).

Figura 4 - Curva padrão de catequina para a concentração de flavonoides.



Fonte: Autoria própria (2019).

Tabela 3 - Resultados de precisão e exatidão para os níveis de concentração da curva analítica de Trolox para atividade antioxidante pelo método de DPPH

(continua)

Trolox (µmol L^{-1})	Absorbância (510 nm)			Média	Conc. Prática (mg L^{-1})	Exatidão (%)	DP	DPR (%)
	I	II	III					
50	0,744	0,762	0,765	0,757	51,3	102,6	0,009	1,225
275	0,601	0,608	0,600	0,603	271,3	98,6	0,004	0,590

Tabela 3 - Resultados de precisão e exatidão para os níveis de concentração da curva analítica de Trolox para atividade antioxidante pelo método de DPPH

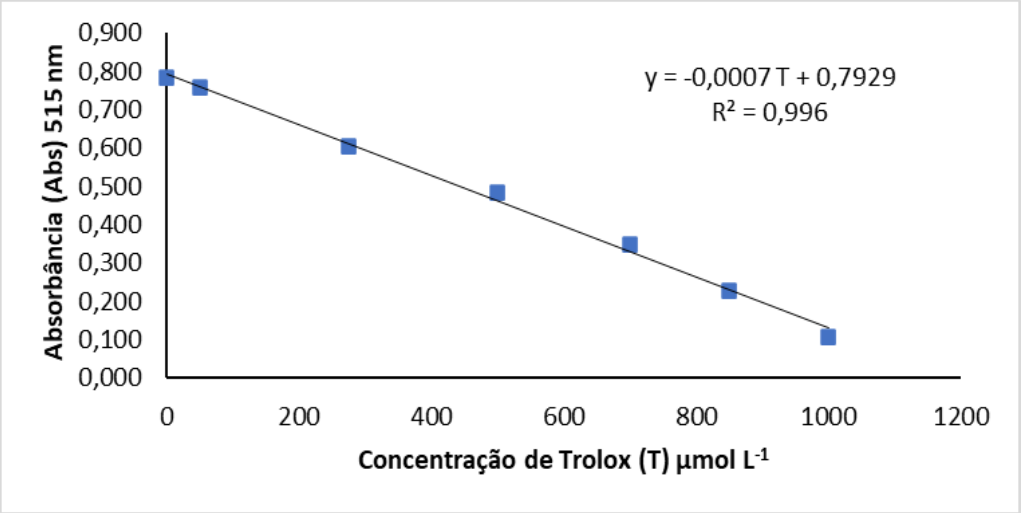
(conclusão)

Trolox (µmol L^{-1})	Absorbância (510 nm)			Média	Conc. Prática (mg L^{-1})	Exatidão (%)	DP	DPR (%)
	I	II	III					
500	0,485	0,478	0,493	0,485	439,4	87,9	0,006	1,263
700	0,349	0,342	0,352	0,348	636,0	90,9	0,004	1,205
850	0,249	0,230	0,205	0,228	807,0	94,9	0,018	7,903
1000	0,109	0,104	0,109	0,107	979,4	97,9	0,002	2,196

Legenda: DP= Desvio Padrão; DPR= Desvio Padrão Relativo.

Fonte: Autoria própria (2019).

Figura 5 - Curva padrão de trolox para a concentração atividade antioxidante.



Fonte: Autoria própria (2019).

Todas as curvas analíticas apresentaram valor de coeficiente de correlação linear maior que 0,99 e estão dentro do recomendado pela RE nº 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA. Com base nos requisitos para métodos analíticos, um coeficiente de correlação linear (R^2) igual a 0,99 e maior ou igual a 0,98 para métodos bioanalíticos e o INMETRO um valor acima de 0,90.

Os resultados dos compostos bioativos para as 38 amostras de mel de abelha sem ferrão são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores médios com desvio padrão (DP) de fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de mel de abelha sem ferrão *Scaptotrigona bipunctata*

(continua)

Identificação das Amostras		Fenólicos Totais	Flavonoides Totais	Atividade Antioxidante (DPPH)
		mg EAG 100 g^{-1} mel ± DP	mg EC 100 g^{-1} mel ± DP	µmol ET 100 g^{-1} mel ± DP
PRIMAVERA 05/12/16	T001pa	60,03 ± 9,55	3,68 ± 1,82	51,59 ± 16,10
	T002pa	94,73 ± 45,53	14,28 ± 2,55	38,02 ± 30,74
	T003pa	60,55 ± 14,63	5,12 ± 10,55	31,89 ± 9,51
	T006pa	66,33 ± 30,56	3,58 ± 0,94	43,43 ± 33,63
	T007pa	61,56 ± 28,20	3,54 ± 1,23	16,17 ± 10,33
	T008pa	63,23 ± 31,54	2,45 ± 0,88	23,14 ± 24,51
	T009pa	47,70 ± 43,08	5,13 ± 0,27	37,96 ± 37,59
	T011pa	50,64 ± 24,10	3,86 ± 1,07	57,90 ± 15,74
	T012pa	64,33 ± 18,37	3,94 ± 1,78	24,63 ± 5,71
	T013pa	53,72 ± 5,01	3,75 ± 3,29	27,30 ± 15,91
	T015pa	58,27 ± 86,87	8,14 ± 0,88	26,30 ± 47,21
	T016pa	47,81 ± 21,82	7,51 ± 1,55	26,65 ± 8,61
	T017pa	46,45 ± 6,05	9,01 ± 0,88	56,29 ± 18,64
VERÃO 16/01 a 26/01/17	T002v	97,30 ± 77,53	9,00 ± 1,63	68,67 ± 8,12
	T003v	80,32 ± 9,09	5,20 ± 0,27	66,47 ± 10,53
	T008v	75,50 ± 18,25	6,54 ± 1,63	71,65 ± 20,02
	T009v	58,15 ± 70,96	8,33 ± 2,24	60,10 ± 16,25
	T011v	71,64 ± 11,17	6,65 ± 1,85	73,08 ± 5,95
	T012v	59,78 ± 27,40	5,43 ± 1,01	44,57 ± 15,74
	T015v	76,49 ± 27,28	4,89 ± 0,71	53,61 ± 8,73
	T016v	70,65 ± 7,84	7,31 ± 1,98	46,47 ± 10,14
	T017v	85,77 ± 11,51	8,79 ± 2,80	41,89 ± 16,74
OUTONO 26/05 a 02/06/17	T002o	78,21 ± 2,92	6,22 ± 2,16	56,71 ± 68,07
	T003o	72,76 ± 1,89	5,23 ± 0,13	45,70 ± 22,99
	T006o	53,34 ± 57,04	7,34 ± 3,16	42,90 ± 28,87
	T008o	62,51 ± 16,01	5,62 ± 0,27	57,36 ± 137,64
	T009o	54,97 ± 46,90	6,77 ± 1,01	77,07 ± 112,25
	T011o	54,63 ± 4,10	6,52 ± 0,71	79,86 ± 48,75
	T015o	60,46 ± 15,22	6,03 ± 0,94	35,10 ± 18,64
	T016o	55,69 ± 6,19	6,36 ± 3,35	35,46 ± 5,77
	T017o	64,40 ± 25,73	5,95 ± 1,68	42,01 ± 11,10
INVERNO 26/06/17	T013i	62,09 ± 10,72	5,53 ± 0,48	50,4 ± 16,68

Tabela 4 - Valores médios com desvio padrão (DP) de fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de mel de abelha sem ferrão *Scaptotrigona bipunctata*

(conclusão)

Identificação das Amostras		Fenólicos Totais	Flavonoides Totais	Atividade Antioxidante (DPPH)
		mg EAG 100 g^{-1} mel ± DP	mg EC 100 g^{-1} mel ± DP	µmol ET 100 g^{-1} mel ± DP
PRIMAVERA 16/11 a 23/11/17	T002pb	73,52 ± 45,53	3,19 ± 0,81	32,01 ± 33,85
	T003pb	100,03 ± 0,52	4,37 ± 0,82	36,83 ± 12,48
	T006pb	53,34 ± 42,67	4,84 ± 1,98	52,18 ± 15,14
	T010pb	43 ± 43,89	4,28 ± 0,36	45,4 ± 45,36
	T012pb	53,08 ± 18,55	6,59 ± 1,29	68,14 ± 16,74
	T013pb	62,24 ± 32,34	8,96 ± 1,75	42,01 ± 28,08
Média		64,61	6,05	47,02
DP		13,88	2,23	16,12

Legenda: pa= primavera 05/12/16; v= verão 16/01 a 26/01/17; o= outono 26/05 a 02/06/17; i= inverno 26/06/17; pb= primavera 16/11 a 23/11/17; DV= Desvio Padrão

Fonte: Autoria própria (2019)

Como podemos observar na Tabela 4, as amostras coletadas no verão 2017 foram as que apresentaram as maiores concentrações de fenólicos totais e flavonoides totais, isso pode ser explicado devido ao verão brasileiro ser uma época do ano com elevadas temperaturas e aumento dos índices pluviométricos. Segundo Machado *et al*. (1997), a disponibilidade da grande maioria dos recursos florais está associada a precipitação.

Em relação as amostras que foram possíveis coletar em diferentes épocas do ano pode-se observar que os teores de compostos fenólicos foram semelhantes entre si, como nas amostras das colônias T002, T003, T006, T008, T009, T012, T013.

As colônias T002 e T003 foram as que geraram mais mel ao longo do ano de coleta, sendo possível coletar na primavera, no verão, no outono e na primavera novamente, apenas no inverno essa colônia não produziu mel suficiente para ser coletado. Um fato interessante de se observar nessas amostras que saíram da mesma colônia, porém em diferentes épocas do ano, são as cores das mesmas, que variaram ao longo das coletas (Figura 2).

O mel pode apresentar várias tonalidades, branco água, extra branco, branco âmbar, âmbar claro, âmbar e âmbar escuro, podendo ser resumido em mel

claro e mel escuro, sendo que um mel mais escuro indica que ele é rico em sais minerais. A coloração do mel depende quase que exclusivamente da sua origem floral. O envelhecimento, armazenamento e temperatura são alguns fatores que também podem alterar a coloração. A cor é um fator de extrema relevância como critério de compra dos consumidores, sendo um dos primeiros critérios adotados por 52,5% dos consumidores, o mel de cor claro é mundialmente o mais aceito (MODESTA, 2021).

As amostras que apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante foram a T011pa, T002v, T003v, T008v, T011v, T009o, T011o e T013pb, sendo a T011o a que apresentou o maior valor de 79,86 µmol ET 100 g^{-1} mel.

Com relação aos fenólicos totais as amostras tiveram um valor médio de concentração de 64,61 mg EAG 100 g^{-1} mel, para os flavonoides as amostras apresentaram um valor médio de concentração de 6,05 mg EC 100 g^{-1} mel e para a atividade antioxidante o valor médio da concentração foi de 47,02 µmol ET 100 g^{-1} mel.

4.1 Resultados fenólicos totais

Conforme a Tabela 4, os valores de compostos fenólicos neste estudo variaram de 43,00 a 100,03 mg EAG 100 g^{-1}, próximos aos encontrados na literatura. Biluca *et al*. (2016), estudou diferentes amostras de abelhas sem ferrão do estado de Santa Catarina e encontrou um teor de compostos fenólicos totais que variaram de 10,3 a 98 mg EAG 100 g^{-1}. Dentre as espécies estudadas pela autora estão *Melipona bicolor, Scapotrigona bipunctata, Melipona quadriasciata, Melipona marginata, Tetragonisca angustula, Melipona mondury, Melipona rufivestris mondory, Tetragina clavipes, Melipona scutellaris, Trigona fuscipennis.* As amostras das espécies *M. quadriasciata* apresentaram os valores de fenólicos mais baixos, enquanto a amostra da espécie *T. angustula* apresentou o maior valor.

Estudos semelhantes realizados por Silva *et al*. (2013a) para méis de abelha sem ferrão oriundos da Paraíba e da Amazônia, apresentaram valores de 1,3 a 66,0 mg EAG 100 g^{-1}. As diferentes espécies, origens botânicas e geográficas das amostras podem explicar a variação.

Diversos estudos têm indicado que a intensidade da cor do mel reflete no seu teor de fenólicos totais e pode ser correlacionada com a sua atividade antioxidante (BERETTA *et al*., 2005; AL *et al.*, 2009; FERREIRA *et al*., 2009; ALVAREZ-SUAREZ *et al*., 2009). Entretanto, no presente trabalho, as amostras que apresentaram as maiores concentrações de fenólicos totais foram amostras com a coloração bem clara, como a T002v, T003v, T017v, T002o, T003o, T002pb e T003pb, não condizente com o encontrado na literatura. Com exceção da amostra T002pa, que possui uma coloração mais escura e um alto teor de fenólicos totais, a qual condiz com a literatura.

4.2 Resultados flavonoides totais

De acordo com a Tabela 4, os valores de flavonoides totais obtidos neste estudo variaram de 2,45 a 14,28 mg EC 100 g^{-1}. Estudos feitos por Sousa *et al*. (2016), apresentam valores de 1,90 a 4,20 mg EC 100 g^{-1} para méis de abelha sem ferrão do Rio Grande do Norte e da Paraíba. Outros estudos feitos por Duarte *et al*. (2018), com méis de abelhas sem ferrão do Alagoas, apresentam valores de 8,00 a 55,00 mg EC 100 g^{-1}, sendo a amostra da espécie *Tetragona clavipes* a que apresentou maior valor, enquanto a *Melipona asilvai* apresentou o menor valor. Verifica-se que os valores encontrados estão dentro da faixa relatada na literatura.

4.3 Resultados DPPH

Como pode-se observar na Tabela 4, a atividade antioxidante pelo DPPH apresentou variações ao longo das diferentes coletas, as quais variaram de 16,17 a 79,86 µmol ET 100 g^{-1}. Estudos feitos também em 2019, de acordo com Ávila *et al*. (2019), foram encontrados valores de atividade antioxidante pelo método de DPPH variando entre 0,971 e 3,91 µmol ET 100 g^{-1}, para mel de abelha sem ferrão da espécie *Scaptotrigona bipunctata.*

4.4 Recuperação e exatidão dos métodos

Os resultados obtidos de recuperação e exatidão são apresentados nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

Tabela 5 - Recuperação e exatidão em três níveis de concentração em estudo de fenólicos totais

Recuperação e exatidão Fenólicos totais							
Concentração (mg/L)	Abs amostra fortf.	Abs amostra real	Abs padrão teórico	Exatidão (%)	Conc. amostra fortf.	Conc. padrão teórico	Recuperação (%)
60	0,353	0,292	0,061	94,8	56,9	56,9	100
765	1,034	0,292	0,829	88,4	676,0	755,1	89,5
960	1,212	0,292	1,056	87,3	837,8	961,5	87,1

Legenda: Fortf: fortificada com padrão ácido gálico; Amostra: mel sem adição do padrão
Fonte: Autoria própria (2019)

Tabela 6 - Recuperação e exatidão em três níveis de concentração em estudo de flavonoides totais

Recuperação e exatidão flavonoides totais							
Concetração (mg/L)	Abs amostra fortf.	Abs amostra real	Abs padrão teórico	Exatidão (%)	Conc. amostra fortf.	Conc. padrão teórico	Recuperação (%)
30	0,193	0,153	0,041	46,45	13,9	14,2	98,5
240	0,576	0,153	1,042	40,50	97,2	231,8	41,9
450	1,835	0,153	2,179	82,42	370,9	478,9	77,4

Legenda: Fortf: fortificada com padrão catequina; Amostra: mel sem adição do padrão
Fonte: Autoria própria (2019)

Verifica-se pelos resultados apresentados nas Tabelas 5 e 6 que para os fenólicos totais os valores de exatidão e recuperação não excederam os intervalos recomendados pela RE nº899 da ANVISA que é de 85-115%. Já para os flavonoides totais os valores de exatidão e recuperação excederam os limites inferiores dos intervalos recomendados.

4.5 Análise dos componentes principais

Neste estudo, as amostras de mel coletadas em diferentes épocas do ano foram comparadas aplicando-se a Análise de Componentes Principais (PCA).

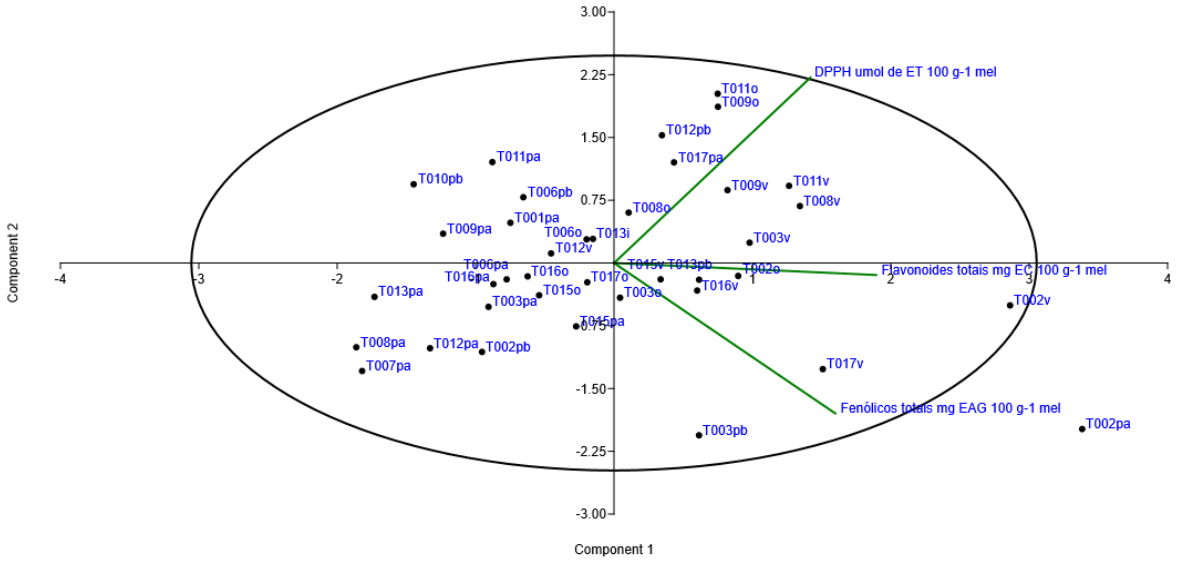
Nas Figuras 6 e 7 são apresentados os gráficos de PCA obtidos a partir dos resultados das concentrações de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante. Para esse modelo, foram utilizadas 3 componentes principais (PCs – *Principal 36omponente* em inglês) que descreveram a variância dos dados. Na tabela 7 podemos observas o peso de cada componente (PC, eixo). Onde o eixo x (1) explica 46,406 % dos dados no gráfico de PCA, o eixo y (2) explica 30,567% dos dados e o eixo z (3) explica 23,027% dos dados.

Tabela 7 - Correspondência do peso de cada componente

	(Peso no Eixo)	Variância (%)
PC	Eigenvalue	(%) variance
1	1,392	46,406
2	0,917	30,567
3	0,691	23,027

Fonte: Autoria Própria (2021).

Figura 6 - Análise dos Componentes Principais (PC1 x PC2) das concentrações de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante (DPPH)



Legenda: pa= primaveira 05/12/16; v= verão 16/01 a 26/01/17; o= outono 26/05 a 02/06/17; i= inverno 26/06/17; pb= primavera 16/11 a 23/11/17.
Fonte: Autoria própria (2021).

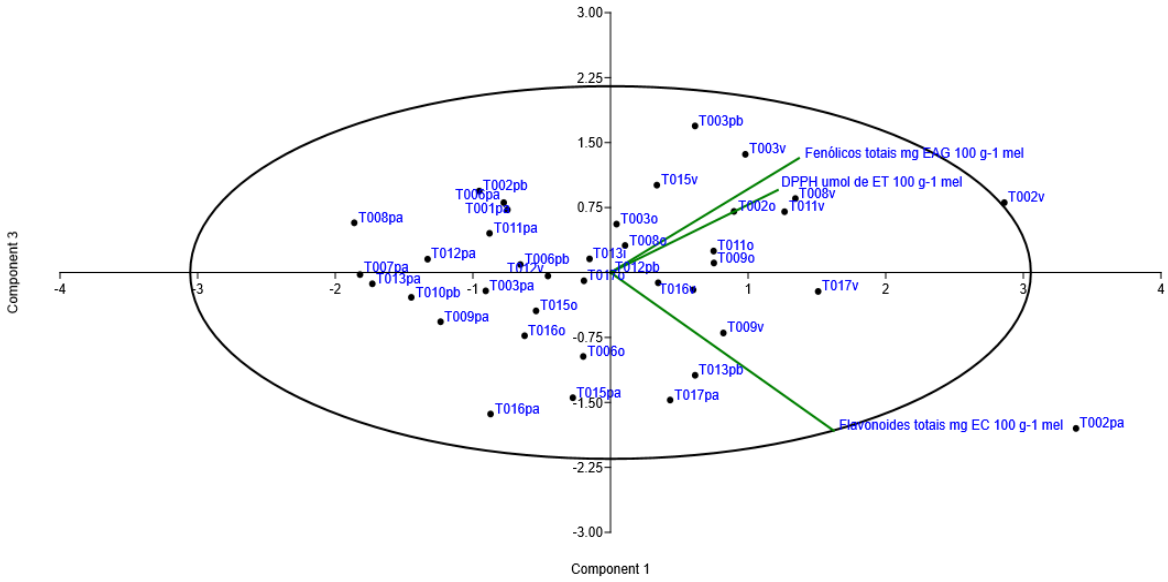
De acordo com a Figura 6, as amostras representadas nos quadrantes positivos apresentaram maiores concentrações de compostos antioxidantes (fenólicos e flavonoides) e maior concentração de atividade antioxidante (DPPH).

As amostras que estão no quadrante PC1 negativo e PC2 positivo são as que apresentaram maiores valores de concentração para fenólicos, como foi o caso das amostras, na maioria das coletadas no verão, T002v, T002pa, T002o T003v, T003pb, T008v, T015v e T017v. A T003v e a T008v ficaram no quadrante positivo de PC1 e PC2 pois elas também apresentaram valores consideráveis para flavonoides.

Para a atividade antioxidante (DPPH), as amostras que estão no quadrante PC1 e PC2 positivo foram as que apresentaram os maiores valores de concentração, como as amostras T011pa, T017pa, T002v, T003v, T008v, T009v, T011v, T009o, T011o e T012pb. Com exceção da T011pa e T002v, no qual a T011pa está no PC1 positivo porém está no PC2 negativo, o que pode ser explicado devido a essa amostra não possuir um valor de concentração tão alto para fenólicos, ou seja, ela ficou no quadrante oposto aos que tem maior concentração para fenólicos. No caso da amostra T002v, ela apresentou valores altos de concentração para fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante.

Observando o quadrante negativo para PC1 e PC2, estão presentes as amostras coletadas na época de primavera e outono T006pa, T007pa, T008pa, T012pa, T013pa, T015pa, T016pa, T015o, T016o e T002pb, que são as amostras que apresentaram os menores valores tanto de flavonoides como de atividade antioxidante (DPPH). Já no quadrante positivo de PC1 e negativo de PC2 estão presentes as amostras, coletadas na primavera, T009pa e T010pb, quais apresentaram os menores valores para fenólicos.

Figura 7 - Análise dos Componentes Principais (PC1 x PC3) das concentrações de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante (DPPH)



Legenda: pa= primaveira 05/12/16; v= verão 16/01 a 26/01/17; o= outono 26/05 a 02/06/17; i= inverno 26/06/17; pb= primavera 16/11 a 23/11/17.
Fonte: Autoria própria (2021).

A partir da figura 7, podemos observar a relação entre PC1 x PC3, a partir desse gráfico de PCA podemos observar as amostras que tiveram uma relação com os maiores valores de fenólicos e atividade antioxidante (DPPH), que são as amostras presentes no quadrante positivo de PC1 e PC3, sendo elas T002v, T003v, T008v, T011v e T002o.

Analisando ainda a figura 7, podemos observar que quase todas as amostras coletadas no verão estão presentes no quadrante positivo de PC1 e PC3, e as amostras coletadas nas demais épocas do ano estão bem distribuídas pelo gráfico.

5 CONCLUSÃO

Observou-se que as amostras de mel de abelhas sem ferrão apresentam características especificas, cada espécie produz um valor de fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante. Mesmo amostras da mesma espécie produzem valores significativamente diferentes, isso pode ocorrer por diferentes motivos, cada colônia tem um comportamento diferente e uma produção específica.

As concentrações de fenólicos totais variaram de 43,00 a 100,03 mg EAG 100 g^{-1}, as concentrações de flavonoides totais de 2,45 a 14,28 mg EC 100 g^{-1} e a atividade antioxidante de 16,17 a 79,86 µmol ET 100 g^{-1}. As amostras coletadas no verão 2017 foram as que apresentaram as maiores concentrações de fenólicos totais e flavonoides totais, isso pode ser explicado devido ao verão brasileiro ser uma época do ano com elevadas temperaturas e aumento dos índices pluviométricos. Os valores de exatidão e recuperação do método no caso dos fenólicos totais comprova a eficiência da extração e da análise feita.

Com base na análise dos componentes principais foi observado as amostras que apresentaram as maiores e as menores concentrações para fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante, podendo agrupar as semelhantes e as diferenças entre elas. Esta análise se mostrou eficaz na separação das amostras.

Os resultados deste estudo representam contribuição, uma vez que pouco se sabe sobre os teores de fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante do mel de abelhas sem ferrão. Além disso, os resultados do presente estudo podem contribuir para a elaboração de uma legislação futura para esse tipo de mel, já que o mesmo não possui uma legislação específica.

Como sugestão para trabalhos futuros, seria fazer um estudo de estabilidade dessas concentrações de compostos antioxidantes e atividade antioxidante com relação a sua degradação, avaliar se existe e mensurar quanto esses compostos podem degradar ao longo do tempo. Além disso, também testar uma nova recuperação do método para a extração de flavonoides, com diferentes solventes e métodos de extração e avaliar se serão mais eficientes.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guias para validação de métodos analíticos e bionalíticos.** Resolução nº 899 de 29 de maio de 2003. Disponível em:http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RE_899_2003_COMP.pdf/ff6fdc6b-3ad1-4d0f-9af2-3625422e6f4b. Acesso em: 19 jul. 2019.

AL, M. L.; DANIEL, D.; MOISE, A.; BOBIS, O.; LASLO, L.; BOGDANOV, S. Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. **Food Chemistry**, v. 112, p. 863-867, 2009.

ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; TULIPANI. S.; ROMANDINI, S.; VIDAL, A.; BATTINO, M. Methodological aspects about determination of phenolic compounds and in vitro evaluation of antioxidant capacity in the honey: a review. **Current Analytical Chemistry,** v. 5, p. 293-302, 2009.

ANNEGOWDA, H. V.; BHAT, R.; TZE, L. M.; KARIM, A. A.; MANSOR, S. M. The free radical scavenging and antioxidant activities of pod and seed extract of Clitoria fairchidiana (Howard) – an underutilized legume. **Journal of Food Science Technology**, v. 50 n. 3, p. 535-541, 2013.

ÁVILA, S.; HORNUNGA, 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. **Food Research International**, v. 123, p. 1-10, 2019.

BALLIVIÁN, J. M. P. P. **Abelhas Nativas sem Ferrão**. São Leopoldo: Oikos, 2008.

BARROS, H. M. **Manejo racional de colônias de meliponíneos**. Relatório de estágio apresentado ao curso de Graduação em Agronomia, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC, 2013.

BERETTA, G.; GRANATA, P.; FERRERO, M.; ORIOLI, M.; FACINO, R. M. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 553, n. 2, p. 185-190, 2005.

BIESAGA, M.; PYRZYNSKA, K. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry studies of the phenolic compounds in honey. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 6620-6626, 2009.

BILUCA, F. C.; BRAGHINI, F.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 50, p. 61–69, 2016.

BILUCA, F. C.; GOIS, J. S. de; SCHULZ, M.; BRAGHINI, F.; GONZAGA, L. V.; MALTEZ, H. F.; RODRIGUES, E.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BORGES, D. L. G.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Phenolic compounds, antioxidante capacity and

bioaccessibility of minerals of stingless bee honey (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, p.89-97, 2017.

BLOCHTEN, B.; FERREIRA, N. R.; TEIXEIRA, J. S. G.; FERREIRA-JUNIOR, N. T.; WITTER, S.; CASTRO, D. **Manual de boas práticas para a criação e manejo racional de abelhas sem ferrão no RS:** Guaraipo Melipona bicolor schenki, Manduri- Melipona marginata obscurior, Tubuna- Scaptotrigona bipunctata. Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 48, 2008.

BORGES, L. L.; LÚCIO, T. C.; GIL, E. S.; BARBOSA, E. F. Uma Abordagem Sobre Métodos Analíticos para a Determinação de Atividade Antioxidante em Produtos Naturais. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer. Goiânia- GO. v. 7, n. 12, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Resolução CNNPA nº 12 de 1978. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br. Acesso em: 24 jun. 2021.

BRASIL. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Brasília: Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000.

BRASIL. Secretaria de Agricultura e Abastecimento. **Agência de Defesa Agropecuária do Paraná.** Paraná: Portaria nº 63 de 10 de março de 2017.

BUTERA, D, TESORIERE, L, DI GAUDIO, F, BONGIORNO, A, ALLEGRA, M, PINTAUDI, AM, KOHEN, R, LIVREA, MA. Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (Opuntiaficusindica) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 895-901, 2002.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives**. Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15 – 25, 2013.

CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G.; MARCHINI, L. C.; ALVES, R. M. O. **Mel de abelhas sem ferrão:** contribuição para a caracterização físico-química. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA, 2005.

COSTA, A. C da. V.; SOUSA, J. M. B.; DA SILVA, M. A. A. P.; GARRUTI, D.D. S.; MADRUGA, M. S. Sensory and volatile profiles of monofloral honeys produced by native stingless bees of the brazilian semiarid region. **Food Research International**, v. 105, p. 110-120, 2018.

COSTA-NETO, E. M.; PACHECO, J. M. Utilização medicinal de insetos no povoado de Pedra Branca, Santa Terezinha, Bahia, Brasil. **Biotemas**, v. 18, n. 1, p. 113-133, 2005.

DUARTE, A. W. F.; VASCONCELOS, M. R. dos S.; ODA-SOUZA, M.; OLIVEIRA, F. F. de.; LÓPEZ, A. M. Q. Honey and bee pollen produced by Meliponini (Apidae) in Alagoas, Brazil: multivariate analysis of physicochemical and antioxidant profiles. **Food Science and Technology**, v. 38(3), p. 493-503, 2018.

EVERETTE, J. D.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Y. A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. A thorough study of reactivity of various compound classes towards the Folin-Ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 14, p. 8139-8144, 2010.

FELDMANN, K. A. Cytochrome P450s as genes for crop improvement. **Curr Opin Plant Biol**, v.4, p. 162-167, 2001.

FERREIRA, I. C.; AIRES, E.; BARREIRA, J.; ESTEVINHO, L. M. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1438-1443, 2009.

KERR, W.E. Métodos de seleção para melhoramento genético em abelhas. **Magistra**, v. 18, n.4, p. 209-212, 2006.

KÜÇÜK, M.; KOLAYLI, S.; KARAOĞLU, S.; ULUSOY, E.; BALTACI, C.; ANDAN, F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 526-534, 2007.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, n., p. 16, 2013.

MACHADO, I. C. S.; BARROS, L. M.; SAMPAIO, E. V. S. B. Phenology of caatinga species at Serra Talhada, PE, northeastern Brazil. **Biotropica,** v.29, p. 57–68, 1997.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F.; ATANASSOVA, M. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, v. 40, n. 3, p. 255-260, 2005.

MEO, S. A.; AL-ASIRI, S. A.; MAHESAR, A. L.; ANSARI, M. J. Role of honey in modernmedicine. **Saudi Journal Biological Science**, v. 24(5), p. 975-978, 2017.

MERCOSUL. Resolução n. 88/99. **Regulamento Técnico MERCOSUL de "Identidade e Qualidade do Mel"**. Montevidéu: Grupo de Mercado Comum, 1999.
MERCOSUL. Resolução nº 56/99. **Regulamento técnico MERCOSUL de Identidade e qualidade do mel**. Montevidéu: Grupo de Mercado Comum, 1999.

MODESTA, R. C. D. **A cor do Mel.** Agronline.com.br. Disponível em: http://www.agronline.com.br/artigos/artigo.php?id=358 . Acesso em: 18 de jul. 2021.

MONIRUZZAMAN, M.; KHALIL, M. I.; SULAIMAN, S. A.; GAN, S. H. Advances in the analytical methods for determining the antioxidant properties of honey: A review. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines**, v. 9, p. 36-42, 2012.

MORALES-GONZÁLEZ, A. J. **Oxidative stress and chronic degenerative diseases – A role for antioxidants**. Mexico City: Intech, 2013. 122p.

MORITZ, R. F. A.; MIRANDA, J.; FRIES, I.; LE CONTE, Y.; NEUMANN, P.; PAXTON, R. J. Research strategies to improve honeybee health in Europe. **Apidologie**, v. 41, p. 227-242, 2010.

OLIVEIRA, F.; KERR, W. E**. Divisão de uma colônia de japurá (Melipona compressipes manaosensis) usando-se uma colméia e o método de Fernando Oliveira**. Manaus-AM: Ministério da Ciência e Tecnologia. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, p. 10, 2000.

OLIVEIRA, F.F.; RICHERS, B.T.T.; SILVA, J.R.; FARIAS, R.C.; MATOS, T.A.L. **Guia ilustrado das abelhas "Sem-Ferrão" das reservas Amanã e Mamirauá, Brasil (Hymenoptera: Apidae, Meliponini)**. Tefé: IDSM, 2013. 267 p.

PEIXOTO, T. J. S.; GOMES, T. L. B.; CARDOSO, K. C. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Teor de flavonóides totais em produtos contendo pata-de-vaca (*Bauhinia L.*) comercializados em farmácias de Recife - PE. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.4, p.586-591, 2012.

PEREIRA, L. L. **Análise físico-químicos de amostras de méis de *Apis mellifera* e meliponíneos**. 2010. 84 f. Dissertação (Mestre em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade São Paulo, Piracicaba, 2010.

PRIOR, R.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** v. 53, n. 1 p. 4290-4302, 2005.

RAMÓN-SIERRA, J. M.; RUIZ-RUIZ, J. C.; ORTIZ-VÁZQUEZ. Electrophoresis characterisation of protein as a method to establish the entomological origin of stingless bee honey. **Food Chemistry**, v. 183, p. 43-48, 2015.

RE, R.; PELEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cátion decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

ROESLER, R.; CATHARINO, R. R.; MALTA, L. G.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: Characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 104 p. 1048-1054,2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre $ABTS^{\bullet+}$. **Comunicado Técnico EMBRAPA**, p. 1679-6535, 2007.

SIGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, p. 94-103, 1999.

SILVA, I. A. A. da.; SILVA, T. M. S. da.; CAMARA, C. A.; QUEIROZ, N.; MAGNANI, M.; NOVAIS, J. S. de, *et al*. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. **Food Chemistry**, v.4, p. 141, 2013a.

SILVA, T. M. S.; SANTOS, F. P.; DOS, EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. S.; DA, SILVA, G. S.; DA, NOVAIS, J. S. DE, *et al*. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (Melipona subnitida) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p. 10–18, 2013b.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras: Sistemática e identificação**. Belo Horizonte: Projeto de conservação e de utilização sustentável da diversidade biológica brasileira, 2002, 253 p.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.

SOUSA, J. M.; DE SOUZA, E. L.; MARQUES, G.; MEIRELES, B.; DE MAGALHÃES CORDEIRO, Â. T.; GULLÓN, B., *et al*. Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by Meliponini in the Brazilian semiarid region. **Food Research International**, v. 84, p. 61–68, 2016.

SOUZA, B.; ROUBIK, D.; BARTH, O.; HEARD, T.; ENRIQUEZ, E.; CARVALHO, C.; VILLAS-BOAS, J.; MARCHINI, L.; LOCATELLI, J.; PERSANO-ODDO, L. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. **Interciencia**, v.31, p. 867–875, 2006.

SOUZA, K.; AUGUSTO, J.; SATTLER, G.; FAGUNDES, L.; MACEDO, L.; VIVIANA, C., *et al*. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian Apis mellifera honeys. **LWT - Food Science and Technology**. 2018.

SUHAG, Y.; NAYIK, G. A.; NANDA, V. Effect of gum arabic concentration and inlet temperature during spray drying on physical and antioxidant properties of honey powder. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 10, n. 2, 2016.

URREA-VICTÓRIA, V.; PIRES, J.; TORRES, P. B.; SANTOS, D. Y. A. C.; CHOW, F. Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas. **Instituto de Biociências**, Universidade de São Paulo- USP, 2016.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral dos Produtos das Abelhas Nativas Sem Ferrão**. 2. ed. Brasília, DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), 2018. 212 p.

VIT, P.; VARGAS, O.; LÓPEZ, T.; VALLE, F. M. Meliponini biodiversity and medicinal uses of pot-honey from El Oro province in Ecuador. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 27, p. 502–506, 2015.

YAMAMOTO, M.; BARBOSA, A. A. A.; OLIVEIRA, P. E. A. M. de. A polinização em cultivos agrícolas e a conservação das áreas naturais: o caso do maracujá-amarelo 85 (Passiflora edulis F. flavicarpa Denerger). **Oecologia Australis**, v. 14, n. 1, p. 174-192, 2010.

ZUCCATO, V.; FINOTELLO, C.; MENEGAZZO, I.; PECCOLO, G.; SCHIEVANO, E. Entomological authentication of stingless bee honey by 1 H NMRbased metabolomics approach. **Food Control**, v. 82, p. 145–153, 2017.