



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ROGELIO MORENO SANTISTEBAN

Estudo químico de méis apícolas, meliponícolas e da resina de *Mycrodruon urundeuva* coletados na Caatinga, Nordeste do Brasil

Recife
2019

ROGELIO MORENO SANTISTEBAN

Estudo químico de méis apícolas, meliponícolas e da resina de *Mycrodruon urundeuva* coletados na Caatinga, Nordeste do Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientador (a): Tania Maria Sarmiento da Silva

Recife
2019

Catálogo na fonte
Bibliotecária Mariana de Souza Alves CRB4-2105

S236e Santisteban, Rogelio Moreno
Estudo químico de méis apícolas, meliponícolas e da resina de *Myrodruon urundeuva* coletados na Caatinga, Nordeste do Brasil/ Rogelio Moreno Santisteban– 2019.
205 f., fig., tab.

Orientadora: Tania Maria Sarmiento da Silva.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.
CCEN, Química. Recife, 2019.
Inclui referências.

1. Química orgânica 2. Myrodruon urundeuva. 3. Resina. 4. Mel de abelhas. I. Silva, Tania Maria Sarmiento da (orientadora).
II. Título.

547

CDD (22. ed.)

UFPE-CCEN 2020-01

ROGELIO MORENO SANTISTEBAN

Estudo químico de méis apícolas, meliponícolas e da resina de *Mycrodruon urundeuva* coletados na Caatinga, Nordeste do Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química.

Aprovado em: 11/10/2019.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Tania Maria Sarmiento da Silva
Departamento de Química
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Girliane Regina da Silva
Faculdade Santíssima Trindade

Profa. Magda Rhayanny Assunção Ferreira
Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Ciências Farmacêuticas

Profa. Bárbara Viviane de Oliveira Santos
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal da Paraíba

Profa. Eva Mônica Sarmiento da Silva
Universidade Federal do Vale do São Francisco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Prof^a Tania Maria Sarmiento pela oportunidade, voto de confiança e por todo o conhecimento compartilhado neste período e principalmente pela paciência.

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

Aos meus queridos colegas do BIOFITO: Girliane Regina, Telma Guedes e Silvana Alves, por todo apoio no início da vivência no laboratório e na pesquisa. À Ayala Nara e Amanda Bispo por todo auxílio e paciência, apoio e ajuda nos experimentos. E a todos que passaram no laboratório nesse período pelos momentos de desconcentração e pela amizade.

À Jaqueline Ferreira de Holanda do Laboratório de Controle e Qualidade de Alimentos da UFRPE, pelo auxílio nos testes físico químicos.

À Prof. Dr. Celso Amorim Câmara pelo apoio.

Ao Prof. Dr. Armando Navarro da Universidade Federal de Pernambuco pela realização das análises de RMN.

Ao CENAPESQ, em especial aos técnicos Júlio e Patrícia por todo auxílio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química e ao Departamento de Química Fundamental, seus professores, colaboradores e funcionários, pelo apoio e ensinamento nas mais diversas situações.

Agradeço de coração a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta no desenvolvimento deste projeto, pela colaboração em minha formação acadêmica e humana.

Obrigado!

RESUMO

O mel das abelhas melíferas e meliponíneos é consumido para fins alimentares e medicinais. Os méis das abelhas nativas sem ferrão mandaçaia (*Melipona mandacaia*) e abelha branca (*Frieseomelitta doederleini*) e da abelha de mel (*Apis mellifera*) coletadas na Caatinga, foram submetidas às análises melissopalínológicas, físico-química, perfil químico por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS, teor de fenólicos e flavonoides e potencial antioxidante. As análises melissopalínológicas mostraram que o pólen predominante para a maioria das amostras foi da espécie *Mimosa tenuiflora* (jurema preta). As análises físico-químicas (pH, acidez livre, hidroximetilfurfural, teor de cinzas, açúcares redutores e atividade de água) atenderam aos critérios de qualidade estabelecidos pela legislação vigente. As amostras das três espécies de abelhas apresentaram atividade sequestradora de radical livre. Os principais compostos identificados por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS foram flavonoides tipo flavonóis/flavonas e flavanonol/flavanonas. O estudo da resina de uma das espécies vegetais visitadas pelas abelhas (*Myracrodruon urundeuva*) foi submetida ao estudo químico (UPLC-DAD-QTOF-MS/MS, RMN e IV) e antimicrobiano. Através da cromatografia de média pressão foram isolados a mistura de três (β -butirospermol, β -cicloartenol e β -24-metilencicloartanol) e dois (α -obtusifoliol e α -cicloeucaleanol) terpenos, além do composto 1-monopalmitina. A resina mostrou atividade moduladora frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853) e *Staphylococcus aureus* ATCC (25923).

Palavras-chave: *Myracrodruon urundeuva*. Resina. Mel de abelhas. *Frieseomelitta doederleini*. *Melipona mandacaia*. Flavonoides.

ABSTRACT

Honey bees and honey bees are consumed for food and medicinal purposes. The honeys of the native stingless bees (*Melipona mandacaia*) and white bees (*Frieseomelitta doederleini*), and the honey bee (*Apis mellifera*) collected in Caatinga, were subjected to melissopalynological, physicochemical, chemical profile by UPLC-DAD. -QTOF-MS / MS, phenolic and flavonoid content and antioxidant potential. Melissopalynological analyzes showed that the predominant pollen for most samples was from the species *Mimosa tenuiflora* (jurema preta). The physicochemical analyzes (pH, free acidity, hydroxymethylfurfural, ash content, reducing sugars and water activity) met the quality criteria established by current legislation. The samples of the three bee species showed free radical scavenging activity. The main compounds identified by UPLC-DAD-QTOF-MS / MS were flavonoids / flavones and flavanone / flavanones. The resin study of one of the plant species visited by bees (*Myracrodruon urundeuva*) was submitted to chemical (UPLC-DAD-QTOF-MS / MS, NMR and IR) and antimicrobial study. By means of medium pressure chromatography, the mixture of three (β -butyrospermol, β -cycloartenol and β -24-methylcycloartanol) and two (α -obtusifoliol and α -cyclocalenol) terpenes, in addition to the compound 1-monopalmitin, were isolated. The resin showed modulating activity against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853) and *Staphylococcus aureus* ATCC (25923).

Keywords: *Myracrodruon urundeuva*. Resin. Bee honey. *Frieseomelitta doederleini*. *Melipona mandacaia*. Flavonoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Abelha sem ferrão <i>Frieseomelitta doederleini</i>	21
Figura 2– Análises físico-químicas do mel de abelha Branca (<i>Frieseomelitta doederleini</i>)....	33
Figura 3– Perfil químico da fração SPE metanólica das amostras do mel de abelha branca ...	35
Figura 4– Núcleos de estruturas flavonas/flavonóis (I); flavonas/ flavonóis (II).....	36
Figura 5– UPLC-DAD (290 nm) da fração SPE metanólica (amostra 3) do mel de abelha branca.....	36
Figura 6– Cromatograma do íon pico base obtido por MS ^E (UPLC-qTOF/MS ^E) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra 3) do mel de abelha branca	37
Figura 7– Espectro de íons produtos de isoramnetina (A) e 7-metoxi-naringenina (B).....	41
Figura 8– UPLC-DAD (290 nm) da fração AcOEt da flor de <i>Mimosa tenuiflora</i> (A) e cromatograma do íon pico base (B) obtido por MS ^E (UPLC-qTOF/MS ^E) em modo negativo	43
Figura 9– Mapa das cidades das coletas das amostras dos méis do estado de Bahia.....	54
Figura 10– Inflorescência da espécie <i>Mimosa tenuiflora</i> (Fabaceae) presente em todos os méis analisados	58
Figura 11– Inflorescência da espécie vegetal <i>Waltheria</i> (Malvaceae) presente nos méis das amostras M21, M23, M27 de <i>Melipona mandacaia</i> analisados.....	60
Figura 12– Grãos de pólen da espécie <i>Mimosa tenuiflora</i> (Fabaceae).....	60
Figura 13– Gráficos das análises físico-químicas do mel de abelha <i>Apis mellifera</i> e Mandaçaia (<i>Melipona mandacaia</i>).....	71
Figura 14– Cromatograma do íon pico base obtido por MS ^E (UPLC-qTOF/MS ^E) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra A1 Remanso) UPLC-DAD (254 nm) (A <i>Apis</i> , B e C <i>Melipona mandacaia</i> , Remanso).....	78
Figura 15– Cromatograma do íon pico base obtido por MS ^E (UPLC-qTOF/MS ^E) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra A7 Petrolina) UPLC-DAD (254 nm).....	80
Figura 16– Cromatograma do íon pico base obtido por MS ^E (UPLC-qTOF/MS ^E) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra M8 Sobradinho) UPLC-DAD (254 nm).....	81

Figura 17– Cromatograma do íon pico base obtido por MS ^E (UPLC-qTOF/MS ^E) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra A6 Sento Sé) UPLC-DAD (254 nm)	82
Figura 18– Cromatograma do íon pico base obtido por MSE (UPLC-qTOF/MSE) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra A6 Pilão Arcado) UPLC-DAD (254 nm).....	83
Figura 19– Espectro de íons produtos de ácido abscísico	84
Figura 20– Espectro de íons produtos de isoramnetina-dihexosideo	85
Figura 21– Árvore <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. Allemão	108
Figura 22– Chalconas isoladas da casca do caule de <i>Myracrodruon urundeuva</i> segundo Viana et al., (2003)	109
Figura 23– Rota biosintética de esteroides e triterpenos segundo Thimmappa. et al., (2014)	115
Figura 24– Matriz de rota biosintética de alguns esteróis e triterpenos segundo Thimmappa. et al., (2014).....	116
Figura 25– Matriz de produtos de algumas funções químicas segundo Thimmappa. et al. (2014).....	117
Figura 26– Rota biosintética de acil gliceróis segundo FICH; SEGERSON; ROSE, 2016; SIMPSON; OHLROGGE, 2016.....	118
Figura 27– Marcha de isolamento por EPCLC de A RA H3, RA H6 e B de F	121
Figura 28– Cromatografia em camada delgada (CCD) da fração hexânica de <i>M. urundeuva</i> corada com reagente de Libermann.....	125
Figura 29– Espectro de IV da fração hexânica da resina <i>Myracrodruon urundeuva</i>	126
Figura 30– Cromatograma da fração hexânica da resina <i>M. urundeuva</i>	128
Figura 31– Cromatogramas dos íons totais UPLC-DAD-QTOF-MS/MS da fração hexânica da resina de <i>Myracrodruon urundeuva</i> , modo positivo A, negativo B	131
Figura 32– Possíveis conformações de cicloartenol segundo MILON et al., 1989.....	134
Figura 33– Cromatografia em camada delgada (CCD) de RA H3 corada com reagente de Libermann.....	149
Figura 34– Espectro de RMN ¹ H (400 MHz CDCl ₃) da mistura RA H3.....	150
Figura 35– Espectro de RMN ¹³ C (77 MHz CDCl ₃) (APT) da mistura RA3	151
Figura 36– Espectro de RMN COSY (400 MHz CDCl ₃) da mistura RA H3	151
Figura 37– Espectro de RMN HSQC (¹ H 400 MHz CDCl ₃ ¹³ C 100 MHz) da mistura RA H3	152

Figura 38– Espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3	152
Figura 39– Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz CDCl_3) da mistura RA H3	153
Figura 40– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3	153
Figura 41– Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz CDCl_3) prótons olefínicos da mistura RA H3	154
Figura 42– Expansão do espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz ^{13}C 100 CDCl_3) da mistura RA H3	154
Figura 43– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3	155
Figura 44– Expansão do espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3	155
Figura 45– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3	156
Figura 46– Triterpenos propostos da mistura RA H-3, β -butirospermol (1), (2) β -cicloartenol, β -24-metilen cicloartanol (3)	160
Figura 47– Cromatograma gasoso de RA H3	160
Figura 48– Espectro de massa de cicloartenol (1), pico Tr = (29,42) obtido por GC-MS	161
Figura 49– Espectro de massa de butirospermol (2). Pico Tr = 29,51	161
Figura 50– Espectro de massa de 24-metilencicloartanol (3), pico Tr = (29,97)	162
Figura 51– Espectro de IV da mistura RA H3	163
Figura 52– Espectros de massas UPLC-DAD-QTOF-MS/MS modo positivo de RA H3, butirospermol A (1), Cicloartenol B (2) e 24-metilencicloartanol C (3)	164
Figura 53– Espectro de RMN ^1H (400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6	167
Figura 54– Espectro de NMR ^{13}C (APT 75 MHz CDCl_3) da mistura RA H6	167
Figura 55– Espectro de RMN COSY (^1H 400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6	168
Figura 56– Espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6	168
Figura 57– Espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6	169
Figura 58– Expansão do espectro de ^1H RMN (400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6	170

Figura 59– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6.....	170
Figura 60– Expansão do espectro de ^1H RMN (^1H 400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6.....	171
Figura 61– Expansão do espectro de RMN COSY (^1H 400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6	172
Figura 62– Expansão do espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6.....	172
Figura 63– Expansão do espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6.....	173
Figura 64– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6.....	174
Figura 65– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6.....	174
Figura 66– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6.....	175
Figura 67– Cromatografia em camada delgada (CCD) de RA H6 corado com reagente de Libermann.....	178
Figura 68– Cromatograma gasoso de RA H6.....	179
Figura 69– Espectro de massa GC de Obtusifoliol (1), pico Tr = (29,21)	180
Figura 70– Espectro de massa CG para cicloeucalenol (2). Pico Tr = 30,14.....	180
Figura 71– Espectro de IV de RA H6.....	181
Figura 72– Espectros de massa UPLC-DAD-QTOF-MS/MS modo positivo dos compostos isolados RA H6, Obtusifoliol A (1), cicloeucalenol B (2)	182
Figura 73– Proposta das substâncias isoladas RA H6 obtusifoliol (4) e (5) cicloeucalenol ..	183
Figura 74– O processo de desmetilação C4 e rearranjo do cátion dammarenil segundo Mander et al., (2010)	184
Figura 75– Espectro de RMN ^1H (500 MHz CDCl_3) da mistura F	185
Figura 76– Espectro de RMN ^{13}C (APT 125 MHz CDCl_3) da mistura F	186
Figura 77– Cromatograma gasoso de F.....	187
Figura 78– Espectro de massa de 1-monopalmitin ou 2- monopalmitin (1), pico Tr = (21,39)	188
Figura 79– Espectro de IV de F.....	188
Figura 80– Cromatograma de F UPLC-DAD-QTOF-MS/MS.....	189

Figura 81– Espectro de massa de 1-monopalmitin UPLC-DAD-QTOF-MS/MS de F [M+H] +	190
Figura 82– Proposta da fragmentação íons produtos de (+) 1-monopalmitin (6)	191
Figura 83– Proposta do composto isolado F 1-monopalmitin (6).....	191
Figura 84– Modulação da fração hexânica da resina de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	193
Figura 85– O mecanismo plausível para atividade antibacteriana do grupo hidroxila segundo Malladi et al., 2017	195

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Frequência polínica das espécies vegetais nas amostras de mel de abelha branca..	30
Tabela 2– Análises físico-químicas do mel de abelha Branca (<i>Frieseomelitta doederleini</i>) ...	32
Tabela 3– Teor de minerais (mg. Kg ⁻¹) no mel de abelha Branca (<i>Frieseomelitta doederleini</i>) a	34
Tabela 4– Identificação dos compostos dos méis de abelha branca por UPLC-DAD-QTOF- MS-MS	39
Tabela 5– Íons produtos (MS ²) dos flavonoides oriundos da retrociclização do anel C (RDA)	40
Tabela 6– Teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antiradicalar (DPPH e ABTS) dos méis da abelha branca ^a	44
Tabela 7– Amostras dos méis de <i>Apis mellifera</i> e Mandaçaia (<i>Melipona mandacaia</i>)	54
Tabela 8– Análises melissopalínológicas das amostras do mel de <i>Apis mellifera</i>	56
Tabela 9– Frequência polínica das amostras M1 – M9 de méis de <i>Melipona mandacaia</i>	61
Tabela 10– Frequência polínica das amostras M18 – M29 de méis de <i>Melipona mandacaia</i> .	62
Tabela 11– Frequência polínica das amostras M30 – M45 de méis de <i>Melipona mandacaia</i> .	64
Tabela 12– Análises físico-químicas do mel de abelha <i>Apis mellifera</i>	74
Tabela 13– Análises físico-químicas do mel de abelha Mandaçaia (<i>Melipona mandacaia</i>) ...	75
Tabela 14– Identificação dos compostos das amostras de mel de <i>A. mellifera</i> (A) e <i>M.</i> <i>mandacaia</i> (M) coletas no município Remanso-BA	86
Tabela 15– Identificação dos compostos das amostras de mel de <i>M. mandacaia</i> (M) coletas no município Remanso-BA	87
Tabela 16– Identificação dos compostos das amostras de mel de <i>A. mellifera</i> (A) coletadas no município Petrolina-PE.....	89
Tabela 17– Tabela 17- Identificacao dos compostos da amostra de mel de <i>M. mandacaia</i> (M) coletas no município Sobradinho-BA.....	90
Tabela 18– Identificação dos compostos das amostras de mel de <i>A. mellifera</i> (A) coletas no município Sento Sé-BA	91
Tabela 19– Identificação dos compostos das amostras de mel de <i>A. mellifera</i> e <i>M. mandacaia</i> (M) coletas no município Pilão Arcado – BA	92
Tabela 20– Proposta de identificação dos compostos dos méis por UPLC-DAD-QTOFMS- MS das amostras <i>A. mellifera</i> e <i>M. mandacaia</i>	94

Tabela 21– Dados do teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antirradicalar (DPPH) dos méis da abelha <i>Apis mellifera</i> ^a	98
Tabela 22– Dados do teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antirradicalar (DPPH) dos méis da abelha Mandaçaia (<i>Melipona mandacaia</i>) ^a	99
Tabela 23– Substâncias propostas por NIST da fração hexânica da resina de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	129
Tabela 24– Proposta de identificação das substâncias da fração hexânica da resina de <i>Myracrodruon urundeuva</i> , UPLC-DAD-QTOF-MS/MS [M+H] ⁺ [M-H] ⁻ e [M+H] ⁺ (PARTE I)	136
Tabela 25– Proposta de identificação das substâncias da fração hexânica com adutos da resina de <i>Myracrodruon urundeuva</i> , UPLC-DAD-QTOF-MS/MS [M-H] ⁻	144
Tabela 26– Proposta de identificação das substâncias da fração hexânica com adutos da resina de <i>Myracrodruon urundeuva</i> , UPLC-DAD-QTOF-MS/MS [M+H] ⁺	145
Tabela 27– Dados de RMN RMN ¹ H (400 MHz CDCl ₃) e RMN ¹³ C (77 MHz CDCl ₃) RA H 3 β-Cicloartenol	157
Tabela 28– Dados de RMN RMN ¹ H (400 MHz CDCl ₃) e RMN ¹³ C (77 MHz CDCl ₃) RA H 3 β-Butirospermol	158
Tabela 29– Dados de RMN RMN ¹ H (400 MHz CDCl ₃) e RMN ¹³ C (77 MHz CDCl ₃) RA H 3 β-24-Metilen cicloartenol	159
Tabela 30– Substâncias propostas de RA H3 por CG	163
Tabela 31– Resultado do cromatograma de RA H3 obtido da fração hexânica da resina de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	164
Tabela 32– Dados de RMN RA H 6 Obtusifoliol (3) (¹ H NMR 400 MHz, (CDCl ₃ ;7.26 ppm e 77.0 ppm de RMN ¹³ C)	176
Tabela 33– Dados de RMN RA H 6 α-Cicloeucaleanol (4) (¹ H NMR 400 MHz, (CDCl ₃ ;7,26 ppm e 77,0 ppm, 75 MHz RMN ¹³ C)	177
Tabela 34– Proposta da NIST de RA H6	181
Tabela 35– Resultado da análise do cromatograma de RA H6 obtido da fração hexânica do extrato etanólico da resina de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	182
Tabela 36– Dados RMN de 1-monopalmitin	186
Tabela 37– Proposta da NIST de F	188
Tabela 38– Resultado do cromatograma de F	190
Tabela 39– Concentração inibitória mínima frente a cepas bacterianas	192

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	18
2	ANÁLISES MELISSOPALINOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS, ATIVIDADE ANTIRRADICALAR E PERFIL QUÍMICO POR UPLC-DAD-qTOF-MS/MS DOS MÉIS DE <i>Frieseomelitta doederleini</i> (ABELHA BRANCA): COMPARAÇÃO COM OS FENÓLICOS PRESENTES NAS FLORES DE <i>Mimosa tenuiflora</i> (JUREMA PRETA).....	20
2.1	INTRODUÇÃO.....	20
2.2	OBJETIVOS.....	23
2.2.1	Objetivo geral.....	23
2.2.2	Objetivos específicos.....	23
2.3	PARTE EXPERIMENTAL	24
2.3.1	Análises físico-químicas	24
2.3.2	Coleta das amostras e análises melissopalínológicas	25
2.3.3	Determinação do teor de minerais	25
2.3.4	Extração dos compostos orgânicos do mel em fase sólida (SPE) e das flores de <i>Mimosa tenuiflora</i>	26
2.3.5	Determinação do teor de fenólicos, flavonoides e atividade antirradicalar	26
2.3.6	Análises por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS	28
2.3.7	Análises estatísticas	28
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
2.4.1	Análises melissopalínológicas	29
2.4.2	Análises físico-químicas	30
2.4.3	Teor de minerais nos méis de abelha branca	33
2.4.4	Análises por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS.....	35
2.4.5	Teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antirradicalar (DPPH e ABTS) dos méis da abelha branca (<i>Frieseomelitta doederleini</i>)	44
2.5	CONCLUSÃO.....	45
	REFERÊNCIAS	46
3	ANÁLISES MELISSOPALINOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS, ATIVIDADE ANTIRRADICALAR E PERFIL QUÍMICO POR UPLC-DAD-	

	QTOF-MS/MS DOS MÉIS DE <i>Apis mellifera</i> E <i>Melipona mandacaia</i>	
	(Mandaçaia).....	51
3.1	INTRODUÇÃO.....	51
3.2	OBJETIVOS.....	53
3.2.1	Objetivo geral.....	53
3.2.2	Objetivos específicos.....	53
3.3	PARTE EXPERIMENTAL	53
3.3.1	Coleta das amostras.....	53
3.1	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
3.1.1	Análises melissopalínológicas	54
3.1.2	Análise físico química das amostras de <i>Apis mellifera</i> e <i>Melipona mandacaia</i>	65
3.1.2.1	Análise de pH	65
3.1.2.2	Acidez livre	66
3.1.2.3	Atividade de água	67
3.1.2.4	Umidade	67
3.1.2.5	Condutividade.....	68
3.1.2.6	Açúcar redutor	68
3.1.2.7	Teor de hidroxifurfural (HMF).....	69
3.1.2.8	Cinzas69	
3.1.3	Análises por UPLC-PDA-qTOF-MS/MS da fração SPE metanólica dos méis	77
3.1.4	Teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antirradicalar (DPPH) dos méis das abelhas mandaçaia (<i>Melipona mandacaia</i>) e <i>Apis mellifera</i>	97
3.2	CONCLUSÃO.....	101
	REFERÊNCIAS	102
4	ANÁLISE QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E MODULADORA DARESINA DE <i>Myracrodruon urundeuva</i> ALL.	105
4.1	INTRODUÇÃO.....	105
4.1.1	Resinas naturais.....	110
4.1.2	Triterpenos.....	112
4.1.3	Biossínteses de triterpenos	113
4.1.4	Ciclização do 2,3-oxidoesqualeno: um substrato, uma matriz de produtos...	113
4.1.5	Óleo resina.....	114
4.1.6	Biossínteses de acil glicerol	114

4.2	OBJETIVO	118
4.2.1	Objetivo geral.....	118
4.2.2	Objetivos específicos.....	118
4.3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	119
4.3.1	Solventes e reagentes	119
4.3.2	Coleta do material vegetal	119
4.3.3	Obtenção do extrato etanólico bruto	119
4.3.4	Obtenção das frações.....	119
4.3.5	Isolamento dos constituintes químicos da resina	120
4.3.6	Identificação estrutural dos componentes químicos das misturas RA H3, RA H6 e F	121
4.3.7	Análise de cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS).....	122
4.3.8	Análise da resina por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS.....	123
4.3.9	Atividade antimicrobiana da fração hexânica de <i>Myracrodruon urundeuva</i> . 123	
4.3.10	Análises estatísticas	125
4.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	125
4.4.1	Análise da fração hexânica da resina <i>M. urundeuva</i> por infravermelho (IV) 126	
4.4.2	Análise por Cromatografia gasosa espectrometria de massas (CG/MS) da fração hexânica da resina <i>Myracrodruon urundeuva</i>	127
4.4.3	Análise por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS da fração hexânica da resina de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	129
4.4.3.1	UPLC-ESI-MS MS ² modo positivo	132
4.4.3.2	UPLC-ESI-MS MS ² modo negativo	134
4.4.4	Análise por técnicas espectroscópicas das misturas obtidas da fração hexânica da resina <i>Myracrodruon urundeuva</i> RA H3, RA H6 e F	148
4.4.4.1	Análise de RMN da mistura RA H3.....	149
4.4.4.2	Análise por cromatografia gasosa da mistura RA H3 obtida da fração hexânica da resina <i>Myracrodruon urundeuva</i>	160
4.4.4.3	UPLC-DAD-QTOF-MS/MS Mistura RA H3 em modo positivo.	163
4.4.4.4	Interpretação dos espectros de RMN dos componentes identificados de RA H6 . 166	
4.4.4.5	Análise por cromatografia gasosa da mistura RA H6 obtida da fração hexânica da resina <i>Myracrodruon urundeuva</i>	178
4.4.4.6	UPLC-PDA-QTOF-MS/MS Mistura RA H6 positivo	182

4.4.4.7	Análise de F por técnicas espectroscópicas.....	185
4.4.4.8	Análise por cromatografia gasosa da mistura F obtida da fração hexânica da resina <i>Myracrodruon urundeuva</i>	187
4.4.4.9	UPLC-DAD-QTOF-MS/MS Mistura F modo positivo	189
4.4.5	Atividade antimicrobiana e moduladora da fase hexânica da resina de aroeira <i>Myracrodruon urundeuva</i>	192
4.5	CONCLUSÕES	196
	REFERÊNCIAS	197

1 INTRODUÇÃO GERAL

A busca por produtos naturais com propriedades medicinais tem sido cada vez mais intensificada, uma vez que as plantas produzem uma vasta gama de substâncias (HARVEY, 2007). Essas substâncias representam uma alternativa para tratamento de várias doenças e o conhecimento obtido a partir de estudos etnofarmacológicos tem sido empregado para tratar doenças na medicina tradicional e popular. Dentre os produtos naturais bioativos, existe os produzidos pelas abelhas, cujos efeitos benéficos à saúde humana têm sido considerados por um número cada vez maior de profissionais (BASA et al., 2016).

As abelhas apresentam uma grande importância, pois atuam diretamente na manutenção do ecossistema global, na preservação da vida vegetal, manutenção da variabilidade genética e, principalmente no processo de polinização de plantas. Entre os grupos existentes de abelhas tem as com ferrão: *Apis mellifera* e as sem ferrão ou nativas, ambas são conhecidas pela produção de mel, pólen, própolis, geopropolis (ÁVILA et al., 2018, 2019; GHISALBERTI, 2015; MAIA-SILVA et al., 2012b; MATOS; ALENCAR; SANTOS, 2014).

É comum encontrar variações na composição química e físico-químicas dos produtos apícolas e meliponícolas, devido a vários fatores que interferem na qualidade como condições climáticas, espécie de abelhas, processamento, armazenamento e a espécie vegetal que foi coletada (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018; ATTANZIO et al., 2016; BOUSSAID et al., 2018). Os fatores que influenciam na preferência das abelhas por determinada fonte de alimento, ainda não são bem conhecidos, porém se sabe que elas apresentam seletividade na escolha (BARROS; LUZ; ALBUQUERQUE, 2013). Dentre os produtos o mel é um dos principais com composição natural elaborada pelas abelhas a partir do néctar das flores ou de exsudações sacarínicas de outras partes vivas das plantas que são coletadas e transformadas por meio da evaporação da água e da adição de enzimas (ALMEIDA FILHO et al., 2011). O papel benéfico é atribuído a 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 amplamente investigados como as substâncias responsáveis pelos efeitos benéficos e são capazes de inibir ou reduzir a formação de radicais livres (LIU et al., 2019). Além disso, as abelhas recolhem resinas e/ou óleos de diferentes partes das plantas para fazer própolis e geoprópolis, para proteção da colônia. As resinas são materiais amorfos sólidos ou semissólidos, geralmente compreendendo uma mistura complexa de compostos orgânicos de compostos fenólicos e terpenos. São insolúveis em água, mas solúveis em certos solventes

orgânicos (LAMBERT et al., 2010; LANGENHEIM, 2004). Eles podem ocorrer em qualquer órgão ou tecido da espécie vegetal (RIKKINEN et al., 2016). As famílias dos vegetais que são importantes produtoras de resinas são Burseraceae, Dipterocarpaceae, Fabaceae, Styracaceae e Anacardiaceae (LAMBERT et al., 2010).

Os óleos não voláteis utilizados pelas abelhas servem para a construção de ninhos, pois fornecem impermeabilidade à água e proteção antimicrobiana (ROSA, 2009). A própolis que também é produzida pelas abelhas, possui mais de 300 compostos identificados, dentre os quais se destacam: a resina, que está presente cerca de 50-60% da composição total, cera (30-40%), óleos essenciais (5-10%), grãos de pólen (5%), microelementos (alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês) e vitaminas (B1, B2, B6, C e E) (GHISALBERTI, 2015; MATOS; ALENCAR; SANTOS, 2014; SILVA et al., 2012). Dentre os metabólitos secundários presentes, são encontrados os flavonoides, ácidos aromáticos, ésteres, aldeídos e cetonas, terpenoides, fenilpropanoides, esteroides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos e outras substâncias em quantidades vestigiais.

Considerando que as abelhas elaboram vários produtos como mel, pólen, própolis e geopropolis que possuem atividade antimicrobiana, este trabalho teve como objetivo realizar caracterização físico-química, origem botânica dos méis apícolas e meliponícolas sendo essas análises fundamentais para definir o seu potencial como alimento funcional e nutricional como também analisar a composição química da resina de *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae), espécie visitada pelas abelhas.

2 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)

2.1 INTRODUÇÃO

Os meliponíneos também conhecidos como ‘abelhas indígenas sem ferrão’ (família Apidae, subtribo Meliponini), compõem-se de centenas espécies em todas as regiões tropicais do mundo, bem como nas regiões subtropicais do hemisfério sul. São abelhas de tamanho pequeno a médias, em geral robustas. Todas as espécies são eussociais e os ninhos são, em geral, construídos em cavidades pré-existentis (occos de árvores, ninhos abandonados de cupins e formigas etc.), mas algumas espécies constroem ninhos expostos. Eles possuem o ferrão atrofiado, e são incapazes de ferroar, sendo conhecidas também como abelhas nativas (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002).

No Brasil, existem mais de 300 espécies de abelhas nativas encontradas principalmente nas regiões Norte e Nordeste. Na Caatinga brasileira são conhecidas 187 espécies, sendo que a maioria é considerada como rara (LEAL; TABARELLI; DA SILVA, 2003). As abelhas sociais nativas sem ferrão como jandaíra, jataí, amarela, moça-branca, irapuá, cupira, mandaçaia, remela, canudo, limão, monduri e com ferrão *Apis mellifera*, também conhecida como abelha de mel, abelha europeia e abelha africanizada, são as mais abundantes. Outras espécies de abelhas de hábitos solitários como também são abundantes e de grande importância ecológica (MAIA-SILVA et al., 2012).

O gênero *Frieseomelitta* (Meliponini) é exclusivamente neotropical com ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde o Sudeste do México até a região Sudeste do Brasil. Elas podem ser encontradas em florestas, Cerrado, Caatinga e regiões montanhosas atingindo até 1600 m de altitude no México (OLIVEIRA, 2003).

A *Frieseomelitta doederleini*, conhecida como abelha branca, asa branca e mané-de-abreu é endêmica do bioma Caatinga na região Nordeste do Brasil, podendo ser encontrada nos estados da Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí e Rio Grande do Norte. A *F. doederleini* é uma abelha de pequeno porte (Figura 1), com o ninho em forma de cacho de uva e produz em torno de 2 litros de mel por colônia/ano a partir de espécies vegetais nativas da região. Com poucos dados na literatura, as informações sobre a espécie no bioma Caatinga são

repassadas pelas observações da população local. O mel é muito valorizado pela população, principalmente no estado da Bahia.

Figura 1– Abelha sem ferrão *Frieseomelitta doederleini*



Fonte: FERNANDES, 2018.

Os méis das abelhas nativas sem ferrão presentes no território brasileiro são produtos únicos e peculiares da biodiversidade do País, muito valorizados pela cultura popular. Apresentam características próprias como maior teor de umidade, geralmente são mais ácidos e menos viscosos que o mel proveniente da espécie exótica *Apis mellifera*. Estas diferenças levam a necessidade de uma norma específica para o estabelecimento de parâmetros físico-químicos que sejam referência tanto para controle de qualidade como para sua comercialização (CAMARGO; OLIVEIRA; BERTO, 2017). Devido ao endemismo de determinadas espécies de abelhas nativas em regiões diferentes do País, alguns estados têm publicado resoluções com as normas técnicas para o mel de abelhas nativas específicas como, por exemplo, a norma técnica para o padrão de qualidade do mel de abelhas nativas do estado de São Paulo (BRASIL, 2017). Por esta razão, existe a necessidade da realização dos testes físico-químicos para méis de outras espécies de abelhas nativas, especialmente a abelha branca (Figura 1). A regulamentação técnica para beneficiamento e controle de qualidade da produção do mel das abelhas nativas do Nordeste do Brasil, pode promover uma cascata de benefícios como geração de emprego e renda, fixação do homem no campo, incremento nas economias locais e regionais,

valorização da biodiversidade, conservação dos ecossistemas, incremento e promoção de uma agricultura mais sustentável.

Existe também uma necessidade de conhecimento da vegetação visitada pelas as abelhas, visto que, elas se alimentam quase que exclusivamente de pólen e néctar coletado das plantas, a exemplo da jurema (*Mimosa tenuiflora*), conhecida popularmente por jurema-preta, é uma árvore conhecida na Caatinga pela presença de espinhos em seus ramos e floresce durante um longo período do ano, porém predominantemente durante a estação seca. Suas inflorescências são reunidas em espigas, formadas por flores brancas, pequenas e suavemente perfumadas que fornecem recursos florais, pólen e néctar, para muitas espécies de abelhas nativas (incluindo a abelha branca), vespas, moscas e outros insetos, sendo muito importante para a manutenção da biodiversidade e funcionamento do ecossistema. Além disso, devido ao seu crescimento rápido e a sua capacidade de rebrota essa espécie é muito importante para a restauração de áreas degradadas (MAIA-SILVA et al., 2012).

Este trabalho está inserido no projeto MeliApis: Projeto de inserção e capacitação da mulher em atividade da agricultura familiar nos municípios do Território do Sertão do São Francisco-BA, sendo uma continuação de trabalhos anteriores (ALVES DE SOUZA et al., 2013; CALDAS et al., 2019; DA SILVA et al., 2014a, 2013; DE SOUZA et al., 2018; SILVA et al., 2013, 2014b; SOUZA et al., 2014).

O Território Sertão do São Francisco-BA (TSSF) está localizado na região Nordeste, com uma área total de 61.750,70 km², sendo composto por dez municípios: Uauá, Campo Alegre de Lourdes, Canudos, Casa Nova, Curaçá, Juazeiro, PilãoArcado, Remanso, Sento Sé e Sobradinho PilãoArcado, Remanso, Sento Sé e Sobradinho, com uma média de 31.768 agricultores familiares, 2.371 famílias assentadas, comunidades quilombolas e uma terra indígena, já reconhecida pelo estado. O acompanhamento e assessoramento de todas as atividades desenvolvidas no Colegiado de Desenvolvimento Territorial do Sertão do São Francisco-BA (Codeter-TSSF), através do Núcleo de Extensão em Desenvolvimento do Território Sertão do São Francisco-BA (Nedet), e a outra foi o desenvolvimento de trabalho de campo com um grupo de seis mulheres nos Municípios de Sobradinho, Casa Nova, Remanso, Pilão Arcado e Sento Sé na Bahia, durante toda a vigência do projeto, totalizando 30 mulheres. Todo o processo foi apoiado pelo Ministério de Desenvolvimento Agrário e pela Organização das Nações Unidas Para a Agricultura e Alimentação (FAO), através de um acordo de cooperação.

O projeto foi implantado como a finalidade de aumentar a renda, principalmente das mulheres, visto que, ainda é uma classe pouco privilegiada, contribuindo também na segurança alimentar e diversificação da produção, para a manutenção e geração de novos postos de trabalho, em condições compatíveis como equilíbrio ambiental e com os valores socioculturais dos grupos envolvidos. Além da melhoria de renda das famílias através da coleta e venda dos produtos como mel e pólen das abelhas, o projeto também beneficiou de forma indireta a preservação das plantas da Caatinga e as espécies de abelhas, principalmente as abelhas sem ferrão, visto que são endêmicas da região, e devido à captura extrativista e aos desmatamentos elas estão ameaçadas de extinção.

Através da implantação do projeto, algumas mulheres conseguiram fundar associações, a exemplo da Associação das Meliponicultoras e Apicultoras de Melosa (Arnafu) no município de Remanso-BA, pois elas pretendem expandir cada vez mais as duas atividades, e após a implantação da Arnafu, já conseguiram multiplicar o número de caixas das mellíferas, as abelhas sem ferrão, como também a compra de material para envasamento do mel.

Foram analisadas as amostras dos méis de abelha branca através das análises físico-químicas, químicas por Cromatografia a Líquido de Ultra eficiência acoplada com detectores de Arranjo de Diodo e Espectrômetro de Massas tipo triplo quadrupolo e Tempo de Voo (UPLC-DAD-qTOF- MS/MS), teor de minerais e atividade antirradicalar, bem como o perfil químico das flores de *Mimosa tenuiflora*.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo geral

Analisar a composição polínica, química e as características físico-químicas do mel e o perfil dos fenólicos totais e potencial antioxidante das amostras de mel *Frieseomelitta doederleini* (abelha Branca) e o perfil químico das flores de *Mimosa tenuiflora*.

2.2.2 Objetivos específicos

- Determinar a origem botânica das amostras de mel *Frieseomelitta doederleini* (abelha Branca);

- Determinar os parâmetros físico-químicos das amostras: umidade; cinzas (g.100g^{-1}), pH, acidez livre (mequiv.Kg^{-1}); condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}$), hidroximetilfurfural (HMF) (mg.Kg^{-1}), atividade de água e açúcares redutores(g.100g^{-1});
- Avaliar a composição dos fenólicos nos méis e nas flores de *Mimosa teuniflora* por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS;

2.3 PARTE EXPERIMENTAL

2.3.1 Análises físico-químicas

Para os testes físico-químicos utilizou-se balança analítica (AW220, Shimadzu, Kyoto, Japan), Refratômetro (RHB-90ATC, MegaBrix, Paraná), Estufa (TE393/2-MP Tecnal, São Paulo, Brasil), Microondas (Mars Xpress, CEM, Matthews, NC, EUA), pHmetro e Condutivimetro (AZ 86505, Az, China), Espectrofotômetro UV-Visível (Lambda 45, Perkim Elmer, São Paulo, Brasil), mufla (1615, Fornitec) e equipamento medidor da atividade de água (AquaLab 4TE, Decagon Devices, WA, USA). Os solventes e reagentes utilizados para estas análises foram: hidróxido de sódio (Dinâmica, São Paulo, Brasil), ferrocianeto de potássio, azul de metileno, bissulfito de sódio (Dinâmica, São Paulo, Brasil), solução tampão pH 4, 7 e 9 (Haloquímica LTDA, São Paulo, Brasil), solução de Fehling A e Fehling B (Teclab, São Paulo, Brasil), solução de Carrez I e II (Dinâmica, São Paulo, Brasil) e ácido nítrico (Merck, Dramstadt, Alemanha). As amostras dos méis foram submetidas as análises: umidade, cinzas (g.100 g^{-1}), pH, acidez livre (mEq Kg^{-1}), condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}$), hidroximetilfurfural (HMF, mg.Kg^{-1}), atividade de água e açúcares redutores (g.100 g^{-1}). Os testes foram realizados em triplicata de acordo com os métodos adotado pelo Instituto Adolfo Lut (ODAIR ZENEBON. NEUS SADOCCO PASCUET. PAULO TIGLEA, 2008).

2.3.2 Coleta das amostras e análises melissopalínológicas

Cinco amostras de mel de abelha branca (1-5) foram coletadas no município de Remanso-Bahia, Nordeste do Brasil em dezembro de 2015. Cadastro nº A43E41B no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético. As amostras foram armazenadas sob refrigeração à temperatura de 5 °C até o início dos estudos. As análises melissopalínológicas foram realizadas de acordo com Erdtman (ERDTMAN, 1960). Os tipos polínicos foram identificados por comparação com lâminas depositadas na palinoteca do Laboratório de Micromorfologia Vegetal, Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana e com o auxílio dos catálogos polínicos disponíveis. Os tipos polínicos foram classificados como pólen dominante ($>45\%$), pólen acessório ($\leq 45\% \geq 15\%$), pólen isolado importante ($\leq 15\% \geq 3\%$) e pólen isolado ocasional ($< 3\%$). As flores de *Mimosa tenuiflora* (jurema preta) foram coletadas no sítio Riacho, município de Vieirópolis, estado da Paraíba. Uma exsicata está depositada no Herbário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, número 53530.

2.3.3 Determinação do teor de minerais

As amostras dos méis foram digeridas em digestor de amostras por microondas com controle de temperatura. A 500 mg da amostra foram adicionados 5 mL de ácido nítrico concentrado, utilizando-se o seguinte método para a digestão: 800 W min^{-1} por 5 minutos com temperatura limitada a 120 °C, 5 minutos a 800 W com temperatura limitada a 160°C e resfriamento por 20 minutos. A solução foi diluída com 15 mL de água deionizada antes da análise por absorção atômica utilizando lâmpadas de catodo oco individuais e padrões a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ppm dos minerais certificados (Qhemis-Hexis, São Paulo, Brasil). A análise elementar (Cu, Fe, K, Mn, Zn, Cr, Na, Mg, Cd, Pb e Ca) foi realizada em espectrofotômetro Varian AA 240 (Victoria, Austrália) por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Curvas de calibração com cinco concentrações para os metais foram construídas e todas as análises realizadas em triplicata. Todos os ajustes instrumentais foram seguidos de acordo com o manual do fabricante. Os valores obtidos para o conteúdo de metais nas amostras foram calculados como mg Kg^{-1} de mel.

2.3.4 Extração dos compostos orgânicos do mel em fase sólida (SPE) e das flores de *Mimosa tenuiflora*

Uma alíquota de 10 g do mel foi solubilizada sob agitação em 2 mL de água acidificada (pH 2 com HCl). Os compostos foram extraídos usando-se cartucho de extração em fase sólida SPE, (SILVA et al., 2014a), que foram previamente ativados utilizando-se 6 mL de metanol e 6 mL de água ultra pura. Após este procedimento, as amostras dos meis foram submetidas a extração com 10 mL de água ultra pura para remoção dos açúcares e outros constituintes polares do mel. A fração dos compostos retidas no cartucho foi eluída com 10 mL de metanol e em seguida, o solvente foi evaporado obtendo-se as frações com pesos que variaram de 10,97-12,92 mg.

As flores frescas de *Mimosa tenuiflora* (89,0 g) foram extraídas com etanol e a solução foi concentrada em rotaevaporador. Parte do extrato etanólico (3,1 g) foi submetido a partição com metanol: água (1:1), hexano e acetato de etila. A fração acetato de etila (1,0 g) obtida após evaporação do solvente foi submetida a análise por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS para comparação do perfil químico com as amostras dos méis.

2.3.5 Determinação do teor de fenólicos, flavonoides e atividade antiradicalar

O teor de fenólicos totais foi determinado com o reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Sternheim, Alemanha) com modificações (DE SOUZA et al., 2018), utilizando o ácido gálico como composto fenólico padrão. Uma alíquota de 100 μL das soluções de mel diluído em água (100 mg mL^{-1}) foram transferidos para um Eppendorff, adicionado 10 μL do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Sternheim, Alemanha) e 360 μL de água destilada, agitando-se por 1 min. Em seguida, 30 μL de Na_2CO_3 (15%) (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foram acrescentados à mistura e agitados por 30 segundos, resultando na concentração final de 20 mg mL^{-1} . Após duas horas, a absorbância de cada amostra foi medida em espectrofotômetro de Elisa UV-Vis em 760 nm (Asys HiTech UVM 340, Biochrom, EUA), 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 do padrão do ácido gálico, o resultado foi expresso em miligrama equivalente de ácido gálico por grama de mel (mg EAG.g^{-1})

O teor de flavonoides totais foi determinado usando o método de Vermerris & Nicholson (WILFRED; NICHOLSON, 2006), 250 μL das soluções de mel diluído em água (100 mg mL^{-1})

¹) foi transferido para um Eppendorff, adicionando-se, em seguida, 100 µL de cloreto de alumínio (AlCl₃ 5 %) e completando-se o volume para 500 µL com água destilada. Após 30 minutos, a absorbância de cada amostra foi medida em espectrofotômetro de Elisa UV-Vis (Asys HiTech UVM 340, Biochrom, EUA), em 425 nm, empregando-se placas de 96 poços. As análises foram realizadas em triplicata e o teor de flavonoides totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com soluções do padrão de quercetina e expressos em miligrama equivalente de quercetina por grama de mel (mg EQ.g⁻¹).

A atividade antirradicalar foi determinada utilizando os radicais DPPH e ABTS (Sigma-Aldrich, Sternheim, Alemanha). O teste com o DPPH foi realizado de acordo com a metodologia descrita por (SILVA et al., 2006) com pequenas modificações. As amostras dos méis (1,0 mg mL⁻¹) foram preparadas pela adição de quantidades apropriadas a 450,0 µL da solução de DPPH (23,6 µg mL⁻¹ em EtOH) (Dinâmica, Química Contemporânea, Brasil) e o volume foi completado para 500,0 µL com EtOH, obtendo-se concentrações finais que variaram de 1,0 a 400,0 µg mL⁻¹. Após 30 minutos de agitação em aparelho de ultrassom ao abrigo da luz, as amostras foram submetidas às análises em espectrofotômetro Elisa UV-Vis a 517 nm. A percentagem da atividade sequestradora foi calculada pela equação: % AS = 100 x Δhx/hc, hc = absorbância controle, hx = absorbância teste, Δhx = hc - hx. O ácido ascórbico (Sigma-Aldrich, Sternheim, Alemanha) (concentrações variando entre 0,5 a 4,0 µg mL⁻¹) foi utilizado como controle positivo.

O ensaio da atividade sequestradora do cátion radical ABTS foi realizado seguindo a metodologia de (DA SILVA et al., 2014b), com pequenas modificações. O cátion radical ABTS^{•+} foi preparado pela reação com 7 mM de ABTS (2,5 mL) e persulfato de potássio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) 140 mM (44 µL). A mistura ficou ao abrigo da luz em temperatura ambiente durante 14 horas. Para o ensaio, 1 mL da solução do radical ABTS foi diluída em EtOH até obter uma absorbância ± 0,7 a 734 nm. Foram adicionadas quantidades apropriadas das amostras a 450,0 µL da solução do radical ABTS e o volume completado para 500,0 µL com EtOH, obtendo-se concentrações que variaram de 1,0 a 100,0 µg mL⁻¹. Após 6 minutos de agitação em aparelho de ultrassom ao abrigo da luz, as amostras foram submetidas às análises por espectrofotômetro Elisa UV-Vis no comprimento de onda de 734 nm. A percentagem da atividade sequestradora foi calculada pela equação: % AS = 100 x Δhx / hc, hc = absorbância controle, hx = absorbância teste, Δhx = hc - hx. Como controle positivo foi utilizado o Trolox (Sigma-Aldrich, Sternheim, Alemanha) (1,0-6,0 mg mL⁻¹).

2.3.6 Análises por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS

Os experimentos analíticos de LC-MS foram realizados utilizando-se um cromatógrafo líquido de ultra eficiência ACQUITY UPLC H-Class (Waters Corporation, Milford, MA, EUA), acoplado a um espectrômetro de massas Quadupolo-Tof (Xevo G2-XS QToF, Waters, EUA) com ionização por eletrospray (ESI). As separações cromatográficas foram realizadas utilizando-se uma coluna ACQUITY UPLC™ BEH (2,1 x 50 mm, 1,7µm, Waters, EUA) a 40°C. A fase móvel binária consistiu de uma solução aquosa de ácido fórmico (Tedia, Brasil) (fase móvel A) e acetonitrila Merck, Darmstadt, Alemanha) com 0,1% de ácido fórmico (fase móvel B). O gradiente de eluição utilizado foi: 0,0-8,0 min, 10-50 % de B; 8,0-9,0 min, 50%-95% de B, com o fluxo de 0,4 mL min⁻¹ e volume de injeção de 5,0 µL. O monitoramento das análises foi realizado nos comprimentos de 290 e 320 nm (UPLC-DAD). O espectrômetro de massas foi operado em modo negativo de ionização (ESI⁻), sendo a detecção realizada no método centróide MS^E em faixa de variação 50-1200 Da. A voltagem do capilar foi ajustada em 3,0 kV para ESI, gás de dessolvatação (N₂) 800 L.h⁻¹ e 600 °C, taxa do fluxo de gás do cone 100 L/h, temperatura da fonte 120 °C, energia de colisão em rampa de 10-30 eV. Todas as análises foram realizadas utilizando o lockspray para garantir a precisão e reprodutibilidade dos valores de massas. Leucina-encefalina, adquiridos no kit Waters AccQ-Tag (200,0 pg mL⁻¹) foi utilizado como padrão/referência para calibração. A aquisição e análise dos dados foram realizadas utilizando-se o software Waters MassLynx. Luteolina, quercetina, narigenina, apigenina e ácido elágico foram obtidos da Sigma-Aldrich (Hamburg, Alemanha), 7-metoxi-narigenina (DA SILVA et al., 2014b) e isorametina (DA SILVA et al., 2013) foram previamente isolados e identificados.

2.3.7 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).

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Análises melissopalínológicas

O grão de pólen apresenta parede externa quimicamente estável e morfologicamente variada, o que permite, através da análise palinológica das cargas de pólen coletadas pelas abelhas, a identificação dos diversos tipos polínicos constituintes, verificação dos períodos de produção e a determinação da origem botânica e geográfica das amostras (BARTH, 2004).

As análises palinológicas das cinco amostras de méis analisadas da abelha branca (Tabela 1) mostraram a presença de sete famílias botânicas diferentes, que foram a Fabaceae com sete tipos polínicos, seguido da Malvaceae com três, Anacardeaceae com dois e as demais Euphorbiaceae, Myrtaceae, Poaceae e Solanaceae com um tipo polínico. Entre os tipos polínicos encontrados nas amostras, observou-se que apenas os gêneros *Schinus* sp das amostras 1,3,4 e 5, *Croton* 3, 4 e 5 e *Mimosa tenuiflora* todas as amostras de mel, apresentaram pólen acessório que variou de 21 a 36 %, já as demais amostras e gêneros apresentaram pólen isolado importante com variação de 0,3 a 11,1%, sendo o mel classificado, portanto, como heterofloral (Tabela 1). A única espécie vegetal que foi encontrada em todas as amostras de mel da abelha branca foi a Jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*), provavelmente o recurso floral estava disponível durante o período de coleta das amostras, como também deve ocorrer uma preferência pelo pólen dessa espécie vegetal, visto que Lima, 2017, trabalhando com origem botânica do mel e pólen de abelhas mandacaias (*Melipona mandacai*) em região Semiárida, verificou a presença de pólen dominante da jurema-preta no mel de mandacaias durante todo o período estudado.

Estudo realizado por TEIXEIRA; OLIVEIRA; VIANA (2007) mostrou que espécies de *Frieseomelitta* sp apresentam padrão de forrageio semelhante ao observado para outros grupos de abelhas eussociais, visitando diversas espécies vegetais, mas concentrando a visita em poucas espécies. Foi observado que estas abelhas visitam espécies da família Caesalpiniaceae em áreas da Caatinga nos estados da Bahia e Paraíba. Espécies vegetais pertencentes a esta família são importantes fontes de néctar e pólen. Da mesma forma, espécies vegetais das famílias Malpighiaceae e Anacardiaceae abundantes na região são bastante visitadas pelas abelhas *F. doederleini* (TEIXEIRA; OLIVEIRA; VIANA, 2007). Estas observações podem ser vistas na Tabela 1 em que se verificam que espécies vegetais destas famílias foram visitadas pela abelha branca.

Tabela 1– Frequência polínica das espécies vegetais nas amostras de mel de abelha branca

Tipos polínicos	Méis de abelha branca (%)				
	1	2	3	4	5
Anacardiaceae					
<i>Schinus</i>	21,9	11,1	32,2	34,8	36,1
<i>Spondias</i>	2,1	1,9	1,1	1,9	0,9
Euphorbiaceae					
<i>Croton</i>	8,1	10,8	24,4	19,9	22,8
Fabaceae					
<i>Anadenanthera</i>	0,6	0,3	0,8	0,3	0,3
<i>Caesalpinia</i>	14,1	3,4	3,3	5,4	9
Fabaceae 1		2,1			
<i>Mimosa tenuiflora</i>	27,9	33,1	28,9	33,9	29
<i>Mimosa subenervis</i>		0,3	0,3		
<i>Prosopis</i>	0,3				
<i>Senna macranthera</i>	0,6		0,6	0,3	
Myrtaceae					
<i>Myrcia</i>	0,3	0,8		0,3	0,6
Malvaceae					
<i>Pseudobombax</i>			1,7	1,6	0,3
<i>Waltheria</i>		1,3			
<i>Sida</i>					0,3
Poaceae					
Poaceae 1					
Solanaceae					
<i>Solanum</i>			0,3		
Indeterminados*	24 (3)	34,9 (1)	6,4 (1)	1,6 (2)	0,6 (1)

*Frequência de tipos polínicos (quantidade de tipos polínicos)

Fonte: MORENO, 2019

2.4.2 Análises físico-químicas

As amostras dos méis de abelha branca mostraram aspecto viscoso, coloração marrom escura, sabor de “melaço de cana de açúcar” e aromático. O resultado das análises físico-químicas do mel de abelha branca estão apresentados na Tabela 2 e Figura 2. Os valores de pH variaram de 3,68 a 3,92 quando comparado com os valores reportados para os méis de abelhas nativas do estado de São Paulo (BRAZIL, 2017). Os valores de pH baixo dos méis inibem a presença e crescimento de micro-organismos. Este parâmetro é muito importante para o armazenamento e influencia na estabilidade durante a estocagem, podendo estar diretamente relacionado com a composição florística nas áreas de coleta, além das diferenças na composição do solo ou associação com outras espécies vegetais (CRANE, 1983).

Os valores da acidez variaram entre 85,83 e 103,33 50 meq.kg⁻¹ (Tabela 2 e Figura 2), sendo acima de 50 meq kg⁻¹ que é o permitido para abelhas sem ferrão. A variação pode ser devido a vários fatores, incluindo o armazenamento das amostras antes das análises, variação dos ácidos orgânicos causada pelas diferentes fontes de néctar, ação das bactérias durante a maturação do mel, quantidade de minerais presentes, entre outros parâmetros não identificados. A acidez pode ser um indicativo de fermentação de açúcares em ácidos orgânicos (KHALIL et al., 2012).

A melhor medida da concentração de água, em termos de propriedades físico-químicas, refere-se a medição de sua atividade de água, ou seja, a medição do teor de água livre no produto. A água pode ocorrer como água ligada e água livre. Os valores da atividade de água para as cinco amostras dos méis variaram de 0,70 a 0,76 (Tabela 2 e Figura 2), estando dentro das normas publicadas para os méis das abelhas nativas, que é de 0,80. (BRASIL, 2017). Para umidade os valores foram de 26 e 27 %, permitidos para o mel *in natura* (mel extraído dos potes e mantido sob refrigeração logo após a sua coleta até o momento do consumo, não submetido a qualquer outro processamento), pasteurizado (mel que após a extração passa por processo térmico de pasteurização para redução e/ou inibição do desenvolvimento microbiológico e/ou da atividade enzimática no produto, sendo posteriormente mantido à temperatura ambiente ou sob refrigeração) ou maturado (mel que após a extração passa pelo processo de maturação em temperatura ambiente, caracterizado por sua fermentação natural, a partir do desenvolvimento das leveduras osmofílicas naturalmente presentes) de abelhas nativas que é no máximo 40g 100g⁻¹ (BRASIL, 2017). O teor de umidade resulta em um mel menos viscoso, sendo uma característica única para os méis das abelhas nativas. A quantidade de água no mel de meliponíneos é considerada o grande diferencial deste produto em relação ao mel de *Apis mellifera* (LIRA et al., 2014). A atividade de água é um parâmetro importante para avaliar o estado e a estabilidade relativa, no que diz respeito às propriedades físicas de qualquer alimento, velocidade das reações de alteração e atividade enzimática, assim como crescimento e desenvolvimento de microrganismos (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

A análise da condutividade das amostras mostrou valores que variaram de 587,66 a 651,66 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (Tabela 2 e Figura 2). A condutividade elétrica do mel está diretamente relacionada com a origem floral e depende da concentração dos sais minerais, ácidos orgânicos, proteínas e outras substâncias (ACQUARONE; BUERA; ELIZALDE, 2007; YADATA, 2014). De acordo com (YADATA, 2014) os méis escuros apresentam maiores valores para a condutividade elétrica, indicando a presença de ácidos e compostos ionizáveis em solução aquosa.

Os valores médios obtidos para os açúcares redutores (frutose e glicose) foram de 59,44 a 60,76/100 g, estando de acordo com os recomendados pela legislação (limite mínimo de 60/100 g). Méis de meliponas possuem menor teor de açúcares (70%), sendo mais adocicados (HOLANDA et al., 2012).

O teor de hidroxifurfural (HMF) dos méis analisados apresentaram valores bem abaixo do permitido (até 20 mg Kg⁻¹ de mel) de 3,04 a 5,23 mg Kg⁻¹ (Tabela 2 e Figura 2). A avaliação de HMF é um parâmetro para verificação do frescor e ou/superaquecimento do mel.

O teor de cinzas nas amostras analisadas variou de 0,18 a 0,26 % (Tabela 2 e Figura 2) e está de acordo com a legislação vigente (máximo de 0,6%). Esse parâmetro representa a riqueza dos minerais no mel, sendo frequentemente utilizado para fins de controle de qualidade. O conteúdo mineral no mel é geralmente pequeno e depende da composição do néctar das espécies vegetais, tipo de solo e está associado a diferentes origens botânicas e geográficas (FELSNER et al., 2004).

Com exceção da acidez, todos os parâmetros físico-químicos para as cinco amostras dos méis de abelha branca apresentaram-se normais de acordo com os dados registrados na literatura e nas legislações para os méis das abelhas nativas sem ferrão.

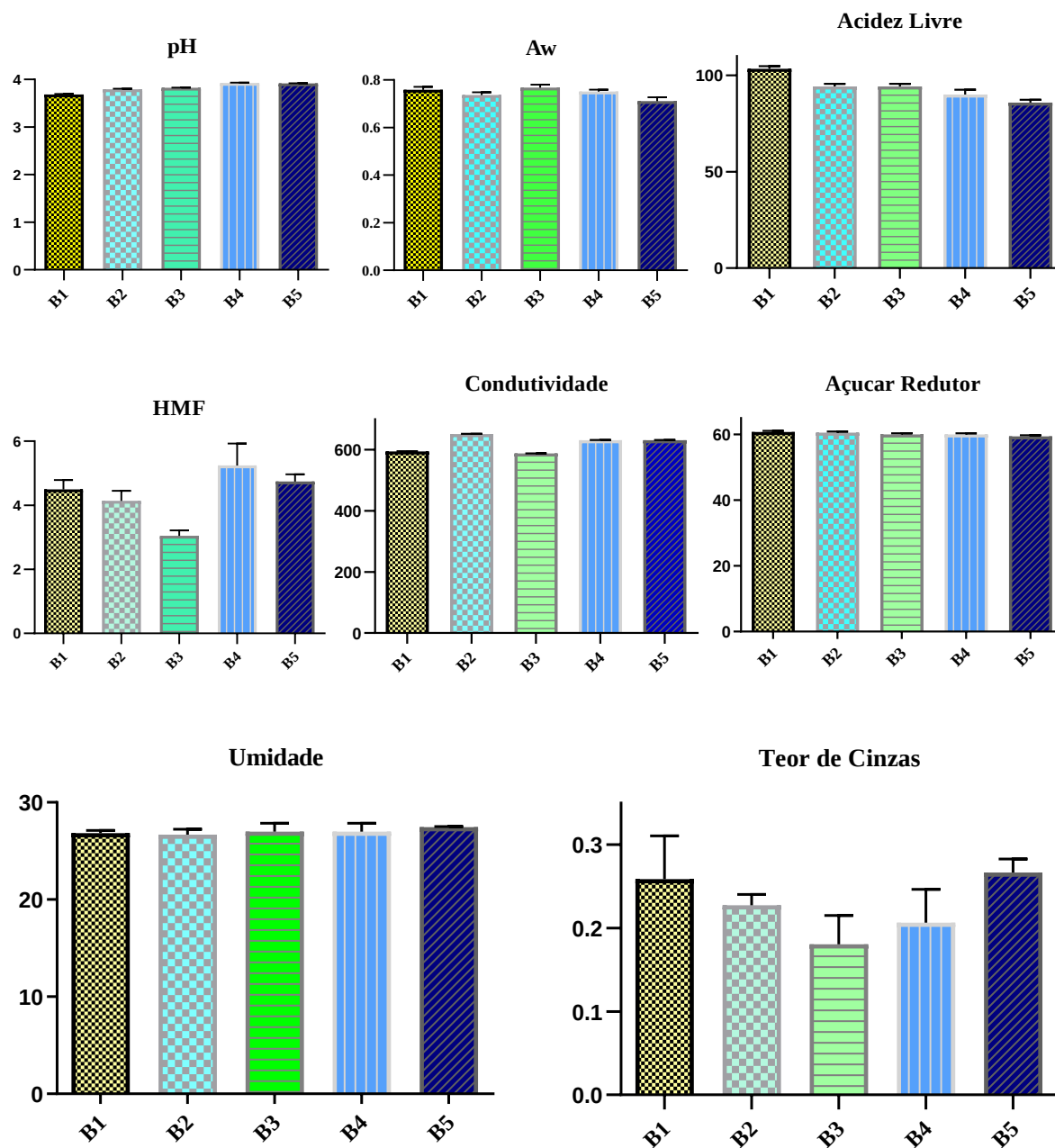
Tabela 2– Análises físico-químicas do mel de abelha Branca (*Frieseomelitta doederleini*)

Amostras	pH	Acidez livre (meq.kg ⁻¹)	Atividade de Agua (aw)	Umidade (%)	Condutividade (µS cm ⁻¹)	Açúcar reductor (%)	HMF (mg Kg ⁻¹)	Teor de cinzas (%)
1	3,68±0,01	103,33±1,40	0,75±0,01	26,83±0,28	595,33±0,57	60,76±0,33	4,49±0,29	0,25±0,05
2	3,79±0,01	94,16±1,44	0,73±0,01	26,66± 0,57	651,66±0,57	60,56±0,33	4,13±0,31	0,22±0,01
3	3,82±0,01	94,16±1,44	0,76±0,01	27,33±0,57	587,66±0,57	60,00±0,32	3,04±0,17	0,18±0,03
4	3,92±0,01	90,00±2,50	0,75±0,01	27,33±0,57	631,33±0,57	60,00±0,32	5,23±0,68	0,20±0,03
5	3,91±0,01	85,83±1,44	0,70±0,02	27,46±0,05	631,33±0,57	59,44±0,31	4,74±0,22	0,26±0,01

^a valor médio ± desvio padrão, n = 3.

Fonte: MORENO, 2019

Figura 2– Análises físico-químicas do mel de abelha Branca (*Frieseomelitta doederleini*)



Fonte: MORENO, 2019

2.4.3 Teor de minerais nos méis de abelha branca

O teor dos minerais (Na, K, Ca e Mg) encontrados nos méis de abelha branca estão na Tabela 3. Verificou-se que o mineral mais abundante foi o K seguido do Mg. A composição mineral do mel varia de acordo com a origem floral, clima, solo e fatores relativos às abelhas. Em méis das abelhas *Melipona fasciculata* e *Melipona flavoneata* foi verificado que o mineral

mais abundante foi o K, seguido do Na, Ca e Mg (SILVA et al., 2013). Segundo Liberato et al., (2013) estudando as amostras de méis monoflorais e heteroflorais coletados pelas abelhas *Apis mellifera* no estado do Ceará, região Nordeste do Brasil observaram que entre os minerais detectados nas amostras analisadas, o K apresentou a maior concentração seguido por Ca, Na, e Mg.

O conteúdo mineral é frequentemente expresso em macro e microelementos e sua composição é dependente de condições intrínsecas (origem botânica) e extrínsecas (solo, origem geográfica). Esses bioelementos estão presentes em amostras de méis, estando entre os principais macronutrientes K, Ca, Mg e Na e micronutrientes Fe, Cu, Zn, Mn e Se (LIBERATO et al., 2013; NANDA et al., 2003). Eles são essenciais para regulação das vias metabólicas e processos fisiológicos. Sua ingestão adequada é fundamental para manter a homeostase, proteção celular, funcionalidade e saúde, enquanto a sua deficiência pode desencadear doenças específicas. De acordo com a regulamentação brasileira para minerais, a contribuição de mais de 30% da IDR (ingestão diária recomendada) de referência por 100 g de produto, classifica o alimento como “alto conteúdo” e acima de 15% como “fonte” (ANVISA, 2012). Com base na IDR, somente o potássio presente nas amostras dos méis de abelha branca pode ser considerado como “fonte” deste mineral.

Tabela 3– Teor de minerais (mg. Kg⁻¹) no mel de abelha Branca (*Frieseomelitta doederleini*)^a

Amostra de mel	K	Mg	Na	Ca
1	1259,60 ± 16,90	40,31 ± 0,56	11,81 ± 0,50	6,58 ± 0,50
2	1260,98 ± 33,57	40,23 ± 0,66	9,92 ± 0,49	6,21 ± 0,43
3	1287,41 ± 38,04	35,98 ± 0,81	12,66 ± 0,28	5,16 ± 0,44
4	1145,73 ± 8,53	35,19 ± 0,56	17,13 ± 1,92	5,58 ± 0,59
5	1334,07 ± 37,64	40,22 ± 0,46	13,20 ± 1,54	5,50 ± 0,43

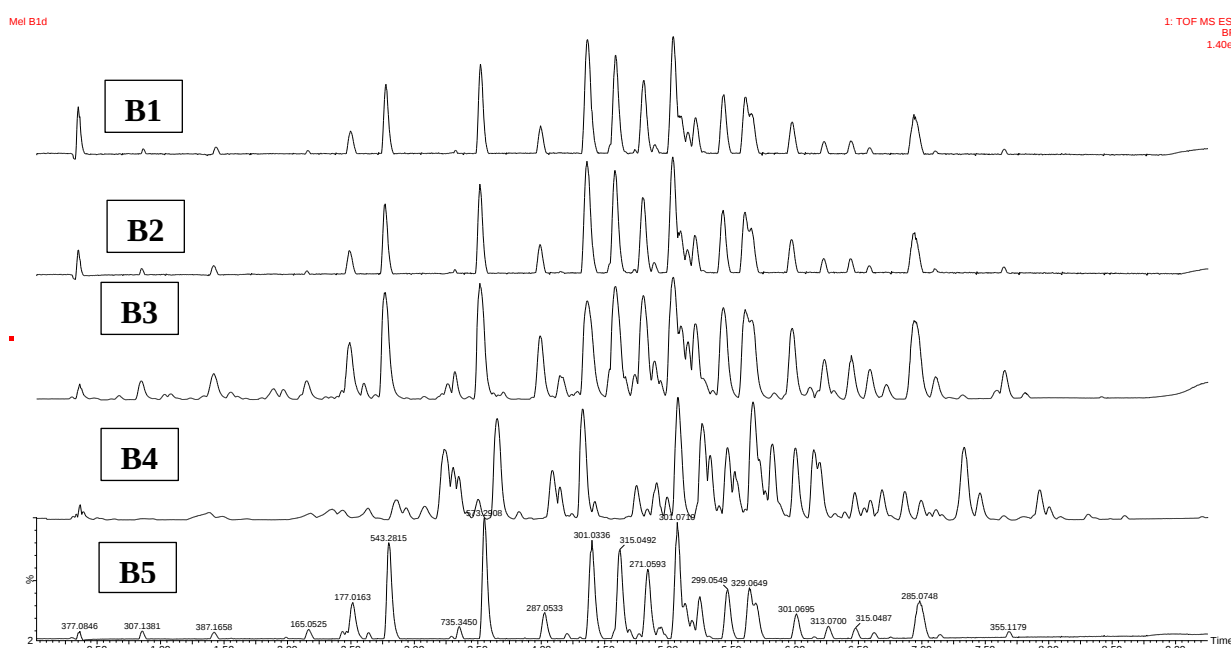
^a valor médio ± desvio padrão, n = 3.

Fonte: MORENO, 2019

2.4.4 Análises por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS

O perfil químico das cinco amostras de *F. doederleini* (abelha branca) é mostrado na Figura 3 mostrando semelhanças entre eles. Alguns compostos conhecidos presentes no mel de abelha branca foram identificados por comparação com padrões autênticos de acordo com os tempos de retenção, dados de ultravioleta (UV) e espectros de massas. Os compostos não conhecidos foram caracterizados pela análise dos íons produtos (espectros MS^E) e pelos espectros de UV comparados com registros na literatura.

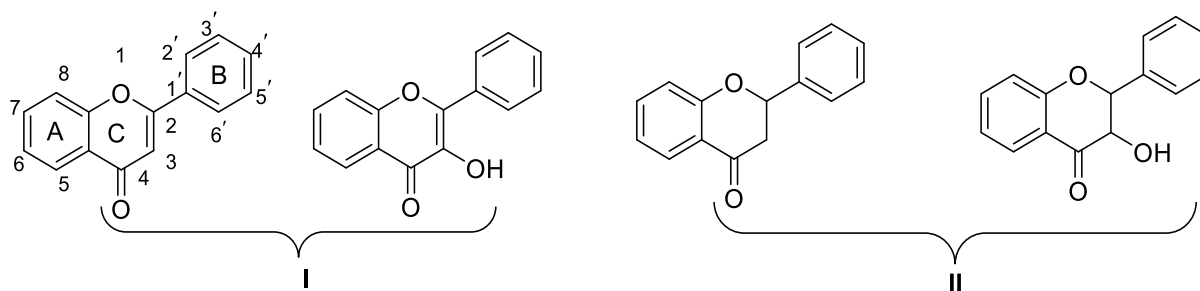
Figura 3– Perfil químico da fração SPE metanólica das amostras do mel de abelha branca



Fonte: MORENO, 2019

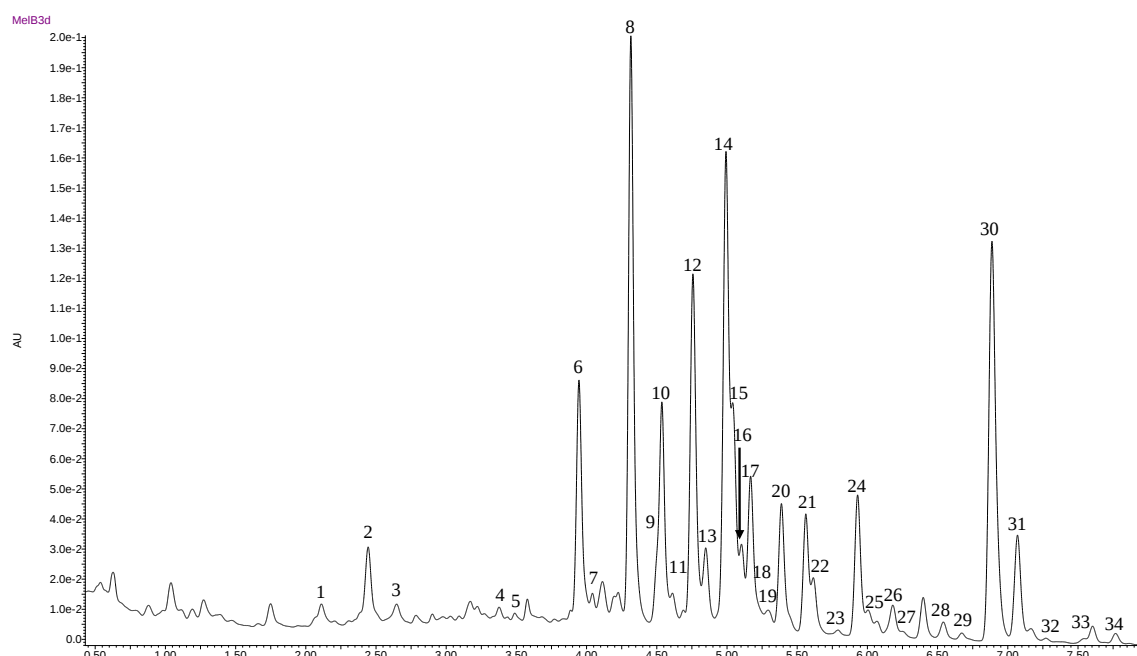
Dos 34 compostos analisados nas amostras de méis, trinta e dois foram identificados (Tabela 4), destes, os compostos **1**, **7**, **8**, **12**, **13** e **30** foram comparados com padrões autênticos. Com exceção dos compostos **3** e **4** (não foi possível a identificação somente com os espectros de massas) todos são derivados fenólicos. Apenas três compostos não são flavonoides agliconas: **1** (ácido elágico), **2** (dihidroxycumarina) e **5** (isoramnetina-glicosídeo). Dos 29 flavonoides agliconas identificados 21 são núcleos tipos flavonas/ flavonóis e 8 são flavanonas/ flavonóis (Figura 4). Os cromatogramas obtidos por UPLC-DAD e íon pico base (UPLC-qTOF/MS^E) em modo negativo da fração SPE metanólica do mel de abelha branca (amostra 3) estão nas Figuras 5 e 6 respectivamente.

Figura 4– Núcleos de estruturas flavonas/flavonóis (I); flavonas/ flavonóis (II)



Fonte: MORENO, 2019

Figura 5– UPLC-DAD (290 nm) da fração SPE metanólica (amostra 3) do mel de abelha branca



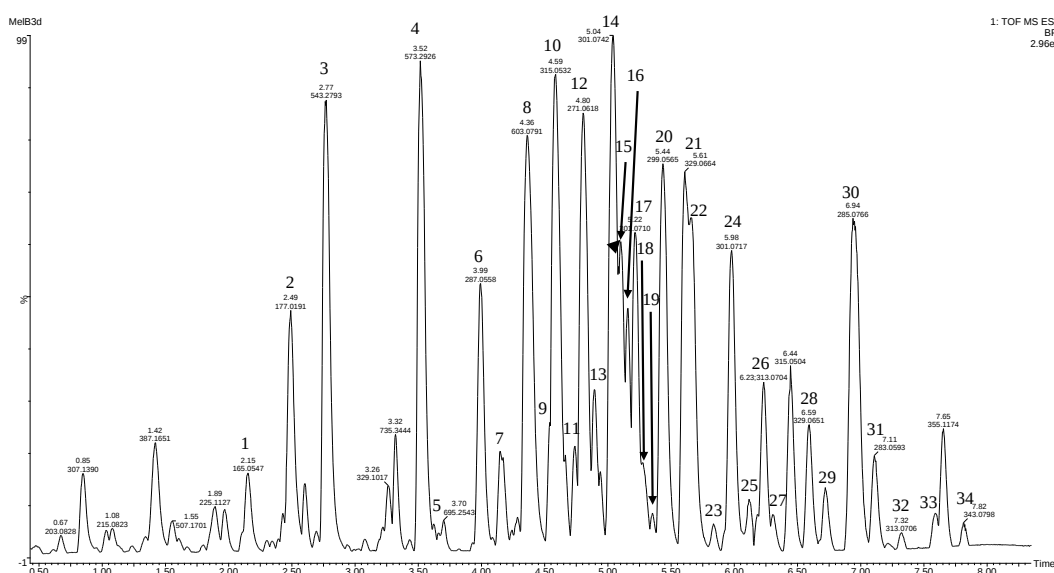
Fonte: MORENO, 2019

O pico 1 mostrou o íon $[M-H]^-$ em m/z 300,9997 e foi identificado como ácido elágico. Os íons produtos em m/z 283,9943 $[M-H_2O]^-$, m/z 257,0072 $[M-H-CO_2]^-$, m/z 229,9945 $[M-H-CO_2-CO]^-$, m/z 201,0184 $[M-H-CO_2-2CO]^-$, m/z 185,0241 $[M-H-2CO_2-CO]^-$ corroboram com a identificação (WYREPKOWSKI et al., 2014). O pico 2 apresentou o íon $[M-H]^-$ em m/z 177,0193 $[M-H]^-$. Os íons produtos em m/z 133,0292 e 89,0383 é referente a perda de CO_2 e em m/z 105,0334 é devido a perda de CO . Estes dados sugerem que o composto 2 pode ser uma cumarina dihidroxilada (XU et al., 2013).

Os compostos 3 e 4 não foram identificados com os dados obtidos pelos espectros de massas e não apresentam absorção no UV. Composto 5 (isoramnetina-glicosídeo) com m/z

477,2039 [M-H]⁻ mostrou a perda de 162 Da, sugerindo a presença de uma hexose na estrutura. O fragmento em m/z 315,0502 [M-H-hexose]⁻ corresponde a molécula da isoramnetina (quercetina metilada) desprotonada. Os flavonoides agliconas foram separados em dois grupos baseados nos valores das absorções no UV (em torno de 290 nm para flavanona/flavanonol e 345-360 nm para flavona/flavonol) e nos íons produtos obtidos nos espectros de massas, sendo a grande maioria isômeros como: **7, 30** (285 Da); **8, 14, 15, 17, 24** (301 Da); **10, 16, 18, 25** (315 Da); **11, 19** (345 Da); **21, 22, 27, 28** (329 Da); **26, 32, 33** (313 Da) e **29, 34** (343 Da). Os picos mais comuns derivados da perda neutra de pequenas moléculas ou íons como por exemplo CO (28 Da), H₂O (18 Da) ou CH₃ (15 Da) estão na Tabela 4.

Figura 6– Cromatograma do íon pico base obtido por MS^E (UPLC-qTOF/MS^E) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra 3) do mel de abelha branca



Fonte: MORENO, 2019

Geralmente a presença dos íons produtos resultantes da perda destas moléculas com baixa intensidade e a presença acentuada do pico do íon desprotonado é observado no espectro MS^E obtido com a mais baixa energia de colisão.

No mesmo tipo de análise MS^E utilizando-se uma rampa com maior energia de colisão que varia de 10 a 30 V, a abundância relativa dos íons produtos que geram moléculas neutras é aumentada, como também aparecem outros fragmentos resultantes da quebra do anel C dos flavonoides, clivagem retro Diels-Alder (RDA), pois com o aumento da energia de colisão, ocorre uma completa fragmentação a partir da molécula desprotonada. A clivagem RDA resulta em fragmentos que revelam o padrão de substituição nos anéis A e B. Os íons produtos são

denominados $^{ij}A^-$ e $^{ij}B^-$, A e B representam os anéis e os números sobrescritos indicam a quebra das ligações a partir das moléculas desprotonadas (MA et al., 1997; TSIMOGIANNIS et al., 2007). Deste modo, os fragmentos representativos das clivagens das ligações 0,2 e 1,3 do anel C em RDA são $^{0,2}A^-$, $^{0,2}B^-$ e $^{1,3}A^-$, $^{1,3}B^-$, respectivamente. A quebra através da retrociclização do anel C que representa as duas classes dos flavonoides está na Figura 7 e os íons produtos (MS^2) obtidos para todos os flavonoides identificados estão na Tabela 5. Os fragmentos obtidos resultantes do anel A e B indicam 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. Um exemplo para as duas classes de flavonoides detectados está na Figura 6, onde é mostrado os principais íons produtos para a isoramnetina e 7-metoxi-naringenina, respectivamente. Isoramnetina representa um flavonol que apresenta o íon desprotonado em m/z 315,0506 $[M-H]^-$ (Figura 7). O espectro de massas mostra a perda de metila em m/z 300,0285 $[M-H-CH_3]^-$, perda de água 283,0275 $[M-2H-CH_3-H_2O]^-$ e subsequentes perdas de CO m/z 271,0248 $[M-2H-CH_3-CO]^-$, 255,0310 $[M-2H-CH_3-H_2O-CO]^-$ e m/z 227,0358 $[M-2H-CH_3-H_2O-2CO]^-$. De acordo com (HUCK et al., 2000) as flavonas metoxiladas primeiro perdem a metila $[M-H-CH_3]^-$, depois ocorre desidratação $[M-2H-CH_3-H_2O]^-$ e perda de carbonila. A clivagem do anel C referente a RDA forneceu os íons produtos em m/z 164,0111, m/z 149,9961, m/z 151,0025 referentes aos fragmentos $^{0,2}A^-$, $^{0,2}B^-$ e $^{1,3}A^-$, respectivamente. O íon produto em m/z 164,0111 demonstra que a metoxila está ligada no anel B da isoramnetina. Os flavonoides semelhantes a isoramnetina apresentaram perfil de ionização similares (Tabela 4). A 7-metoxi-naringenina, representante de uma flavanona, apresentou o pico do íon desprotonado em m/z 285,0762 $[M-H]^-$. Os principais íons produtos formados foram m/z 269,0383 $[M-2H-CH_3]^-$ e m/z 252,0089 $[M-2H-CH_3-H_2O]^-$, além dos íons referentes a RDA em m/z 165,0467 ($^{0,2}A^-$) e m/z 119,0494 ($^{0,2}B^-$). Mais uma vez a presença da metoxila na posição 7 do anel A foi confirmada pelo pico referente a $^{0,2}A^-$ de m/z 165,0467 (Figura 7). Os picos dos íons produtos obtidos de todas as outras flavanonas ou flavanonois estão nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4– Identificação dos compostos dos méis de abelha branca por UPLC-DAD-QTOF-MS-MS

	RT (min)	λ_{max} (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	[M-H] ⁻ (m/z) Calculado		Tentativa de identificação
1	2,15	364	300,9997	300,9990	257,0072 [M-H-CO ₂] ⁻ , 229,9945 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻ , 185,0241 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻	Ácido elágico*
2	2,49	293	177,0193	177,0193	133,0292 [M-H-CO ₂] ⁻ , 105,0334 [M-H-CO] ⁻ , 89,0383 [M-H-2CO ₂] ⁻	Dihidroxicumarina
3	2,77	-	543,2815	-		Não identificado
4	3,52	-	573,2867	-		Não identificado
5	3,65	345	477,1039	477,1039	315,0502 [M-H-glicose] ⁻	Isoramnetina-glicosídeo
6	3,99	287	287,0558	287,0561	259,9099 [M-H-CO] ⁻	Tetrahidroxi-flavanona
7	4,15	359	285,0400	285,0405	257,0378 [M-H-CO] ⁻	Luteolina*
8	4,36	345	301,0305	301,0353	283,0178 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 273,0399 [M-H-CO] ⁻	Quercetina*
9	4,52	345	331,0437	331,0459	316,0200 [M-H-CH ₃] ⁻ , 301,0304 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 272,0483 [M-2H-2CH ₃ -CO] ⁻	Pentahidroxi-metoxi-flavona
10	4,59	356	315, 0576	315,0510	300,0258 [M-H-CH ₃] ⁻ , 271,0230 [M-2H-CH ₃ -CO] ⁻ , 272,0288 [M-H-CH ₃ -CO] ⁻ , 255,0301 [M-2H-CH ₃ -CO-H ₂ O] ⁻	Tetra-hidroxi-metoxi-flavona
11	4,74	358	345,0608	345,0608	330,0374 [M-H-CH ₃] ⁻ , 315,0137 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 287,0194 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Pentahidroxi-dimetoxi-flavona
12	4,80	288	271,0606	271,0611	253,0455 [M-H-H ₂ O] ⁻	Naringerina*
13	4,89	345	269,0451	269,0455	241,3104 [M-H-CO] ⁻	Apigenina*
14	5,04	290	301,0790	301,0716	286,0473 [M-H-CH ₃] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona
15	5,10	288	301,0710	301,0716	285,0385 [M-2H-CH ₃] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona
16	5,16	360	315,0505	315,0510	300,0261 [M-H-CH ₃] ⁻ , 272,0299 [M-H-CH ₃ -CO] ⁻ , 271,0230 [M-2H-CH ₃ -CO] ⁻ , 243,0287 [M-2H-CH ₃ -2CO] ⁻	Tetrahidroxi-metoxi-flavona
17	5,22	286	301,0701	301,0716	286,0464 [M-H-CH ₃] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona
18	5,28	345	315,0506	315,0510	300,0238 [M-H-CH ₃] ⁻ , 283,0275 [M-H-CH ₃ -H ₂ O] ⁻ , 271,0248 [M-2H-CH ₃ -CO] ⁻ , 255,0301 [M-2H-CH ₃ -CO-H ₂ O] ⁻ , 227,0358 [M-2H-CH ₃ -H ₂ O-2CO] ⁻	Isoramnetina
19	5,35	346	329,0638	329,0666	314,0409 [M-H-CH ₃] ⁻ , 299,0177 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 271,0231 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona
20	5,44	349	299,0558	299,0561	284,0302 [M-H-CH ₃] ⁻ , 255,0276 [M-2H-CH ₃ -CO] ⁻ , 227,0328 [M-2H-CH ₃ -2CO] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavona
21	5,61	339	329,0663	329,0666	314,0415 [M-H-CH ₃] ⁻ , 299,0180 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 271,0232 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Trihidroxi-dimetoxi-flavona
22	5,67	355	329,0663	329,0666	314,0394 [M-H-CH ₃] ⁻ , 299,0163 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 271,0261 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻ , 243,0272	Trihidroxi-dimetoxi-flavona
23	5,84	346	359,0772	359,0772	344,0544 [M-H-CH ₃] ⁻ , 329,0302 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 301,0359 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻ , 286,0110 [M-H-3CH ₃ -CO] ⁻	Trihidroxi-trimetoxi-flavona
24	5,98	286	301,0716	301,0716	283,0501 [M-H-H ₂ O] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona
25	6,12	287	315,0878	315,0874	285,0410 [M-H-2CH ₃] ⁻	Dihidroxi-metoxi-flavanona
26	6,23	333	313,0714	313,0717	298,0471 [M-H-CH ₃] ⁻ , 283,0235 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 255, 0291 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Dihidroxi-dimetoxi-flavona
27	6,30	359	329,0666	329,0666	314,0435 [M-H-CH ₃] ⁻ , 299,0202 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 271,0266 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Trihidroxi-dimetoxi-flavona
28	6,59	357	329,0655	329,0666	314,0415 [M-H-CH ₃] ⁻ , 299,0178 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 271,0234 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Trihidroxi-dimetoxi-flavona
29	6,72	245	343,0808	343,0823	328,0567 [M-H-CH ₃] ⁻ , 313,0329 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 298,0099 [M-H-3CH ₃] ⁻	Dihidroxi-trimetoxi-flavona
30	6,94	287	285,0762	285,0768	269,0383 [M-2H-CH ₃] ⁻	7-metoxi-naringenina*
31	7,11	345	283,0610	283,0611	268,0362 [M-H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi-metoxi-flavona
32	7,32	346	313,0714	313,0718	298,0453 [M-H-CH ₃] ⁻ , 283,0211 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 255, 0273 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Dihidroxi-dimetoxi-flavona
33	7,59	357	313,0694	313,0718	298,0453 [M-H-CH ₃] ⁻ , 283,0211 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 255, 0267 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Dihidroxi-dimetoxi-flavona
34	7,82	345	343,0811	343,0813	328,0560 [M-H-CH ₃] ⁻ , 313,0325 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 285,0378 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻ , 270,0139 [M-H-3CH ₃ -CO] ⁻	Hidroxi-trimetoxi-flavona

*Comparado com padrão autêntico

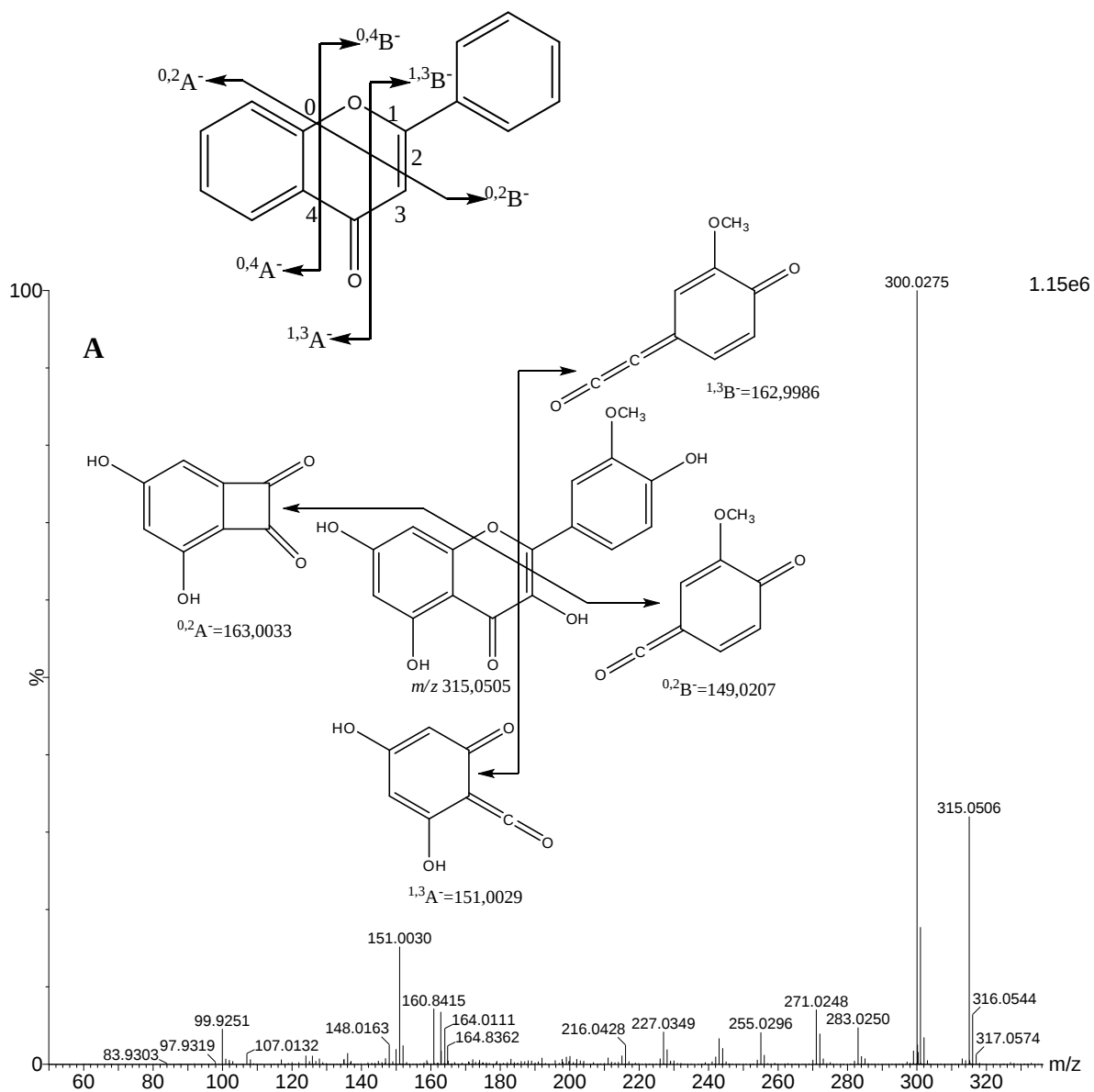
Fonte: MORENO, 2019

Tabela 5– Íons produtos (MS²) dos flavonoides oriundos da retrociclização do anel C (RDA)

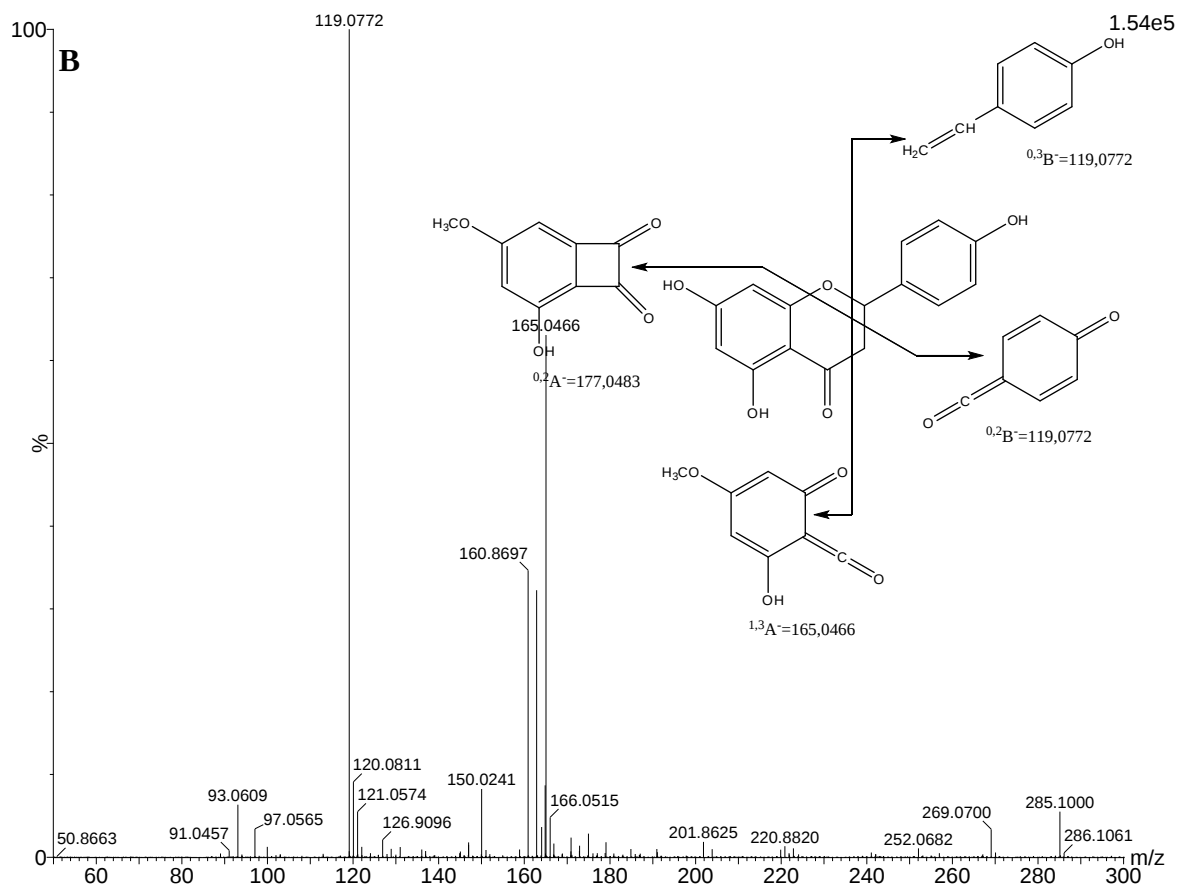
	[M-H] ⁻	Flavonoides	^{0,2} A ⁻	^{0,2} B ⁻	^{0,4} B ⁻	^{1,3} A ⁻	^{1,3} B ⁻	[M-H-B] ⁻	[M-H-B-CH ₃] ⁻
6	287,0558	Tetrahidroxi-flavanona		135,0444		151,0029			
7	285,0400	Luteolina				151,0029	133,0291	193,0128	
8	301,0305	Quercetina				151,0036	133,0266		
9	331,0437	Pentahidroxi-metoxi-flavona						223,0232	208,0002
10	315,0576	Tetrahidroxi-metoxi-flavona				151,0057	148,0146		
11	345,0608	Pentahidroxi-dimetoxi-flavona			175,0050				
12	271,0606	Naringerina		119,0494		151,0027		177,0188	
13	269,0451	Apigenina		119,0499		151,0031			
14	301,0790	Trihidroxi-metoxi-flavanona	165,9903	119,0496		151,0935			
15	301,0710	Trihidroxi-metoxi-flavanona				151,0031		177,0190	
16	315,0505	Tetrahidroxi-metoxi-flavona				165,9903			
17	301,0701	Trihidroxi-metoxi-flavanona				151,0023			
18	315,0506	Isoramnetina	163,0033	149,0207		151,0029	162,9986		
19	329,0638	Trihidroxi-dimetoxi-flavona				151,0029		193,0130	
20	299,0558	Trihidroxi-metoxi-flavona	183,0439						
21	329,0663	Trihidroxi-dimetoxi-flavona	165,9888						
22	329,0663	Trihidroxi-dimetoxi-flavona						193,0482	
23	359,0772	Trihidroxi-trimetoxi-flavona	195,8101						
24	301,0716	Trihidroxi-metoxi-flavanona	165,0181						135,0441
25	315,0878	Dihidroxi-metoxi-flavanona	165,0184						
26	313,0714	Dihidroxi-dimetoxi-flavona	163,0037			151,0030			
27	329,0666	Trihidroxi-dimetoxi-flavona	199,0377						
28	329,0655	Trihidroxi-dimetoxi-flavona	181,0505						
29	343,0808	Dihidroxi-trimetoxi-flavona	197,0455						
30	285,0762	7-metoxi-naringenina*	177,0483	119,0772		165,0466	119,0772		
31	283,0610	Dihidroxi-metoxi-flavona	151,0031						
32	313,0714	Dihidroxi-dimetoxi-flavona							
34	313,0694	Dihidroxi-dimetoxi-flavona	183,0424						
35	343,0811	Hidroxi-trimetoxi-flavona						193,0808	

Fonte: MORENO, 201

Figura 7– Espectro de íons produtos de isoramnetina (A) e 7-metoxi-naringenina (B)



Fonte: MORENO, 2019

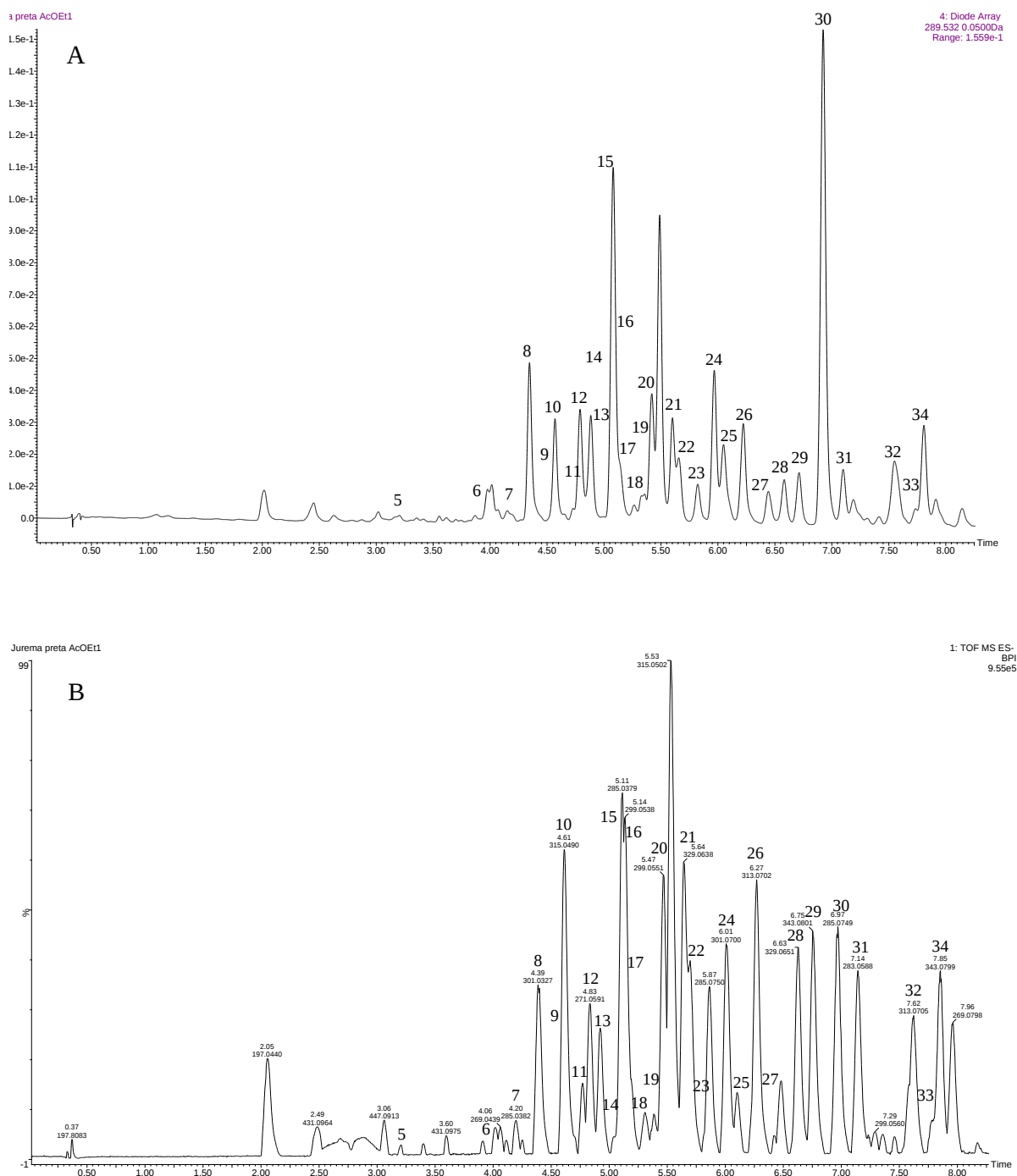


Fonte: MORENO, 2019

Uma vez que a análise melissopalinológica mostrou uma maior porcentagem de pólen coletados da espécie *Mimosa tenuiflora* (Tabela 1) com o indicativo que as abelhas visitaram esta espécie vegetal com maior frequência, as flores de *Mimosa tenuiflora* (jurema preta) foram coletadas para extração e análise por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS e os cromatogramas estão na Figura 8. As análises dos cromatogramas mostraram que os flavonoides (compostos 5-34) presentes nos méis de abelha branca são os principais constituintes das flores da jurema preta, ou seja, em relação a estes compostos tanto os méis quanto a flor apresentam o mesmo perfil químico. Estes dados reforçam que os méis analisados apresentam a maior constituição do néctar coletado das flores desta espécie vegetal como mostrado na análise palinológica. Mais uma vez os dados obtidos neste trabalho mostram o forrageamento específico das abelhas nativas em espécies vegetais também nativas da Caatinga brasileira (DA SILVA et al., 2014b), indicando que os meliponíneos não apenas interferem nos aspectos sociais e econômicos, mas também em processos ecológicos e no ecossistema. Neste sentido, existe a necessidade de preservação para a manutenção da diversidade vegetal e da flora nativa aumentando os sítios

de nidificação para as abelhas sem ferrão e manutenção do equilíbrio na região semiárida do Nordeste.

Figura 8– UPLC-DAD (290 nm) da fração AcOEt da flor de *Mimosa tenuiflora* (A) e cromatograma do íon pico base (B) obtido por MS^E (UPLC-qTOF/MS^E) em modo negativo



Fonte: MORENO, 2019

2.4.5 Teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antirradicalar (DPPH e ABTS) dos méis da abelha branca (*Frieseomelitta doederleini*)

Os resultados das análises teor de flavonoides, fenólicos totais e atividades antirradicalares frente aos radicais DPPH e ABTS dos méis da abelha branca estão na Tabela 6. O teor de compostos fenólicos variou de 1,15-1,23 miligramas equivalente ao ácido gálico por grama do mel (mgGAE g⁻¹). Este resultado é similar aos valores encontrados para os méis *in natura* da abelha sem ferrão *Melipona subnitida* (SILVA et al., 2013). Os teores de flavonoides variaram de 0,15-0,18 miligramas equivalente a quercetina por cada grama de mel (mg EQ g⁻¹ de Mel).

As atividades antirradicalares das amostras de mel estão na Tabela 6. A CE₅₀ variou de 4,21-5,51 mg mL⁻¹ (ABTS) e 7,19-14,32 mg mL⁻¹ (DPPH). Para os resultados obtidos com o radical DPPH os valores da CE₅₀ também estão próximos dos valores encontrados para os méis da *Melipona subnitida* (SILVA et al., 2013). Provavelmente a atividade antirradicalar está relacionada com os flavonoides presentes nos méis, dentre eles a quercetina e luteolina conhecidos por apresentarem estas atividades (BURDA; OLESZEK, 2001). Todos os resultados obtidos com os méis de abelha branca são inéditos. Sobre a realização dos testes teor de fenólicos totais, teor de flavonoides e avaliação das atividades antirradicalares nos méis de abelha branca *in natura*, na literatura só existe relato sobre esta metodologia para os méis da abelha sem ferrão jandaíra (SILVA et al., 2013). As atividades antirradicalares apresentadas pelas cinco amostras de méis indicam o potencial antioxidante do mel de abelha branca com tipo polínico jurema preta predominante.

Tabela 6– Teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antirradicalar (DPPH e ABTS) dos méis da abelha branca^a

Amostras	Teor de fenólicos (mg EAG g ⁻¹ Mel)	Teor de flavonoides (mg EQ g ⁻¹ Mel)	DPPH CE ₅₀ (mg mL ⁻¹)	ABTS CE ₅₀ (mg mL ⁻¹)
B1	1,21 ± 0,02	0,15 ± 0,02	14,32 ± 0,82	4,76 ± 0,04
B2	1,16 ± 0,01	0,18 ± 0,02	13,81 ± 0,31	5,51 ± 0,08
B3	1,21 ± 0,06	0,16 ± 0,01	13,17 ± 0,81	4,21 ± 0,97
B4	1,15 ± 0,03	0,16 ± 0,00	10,38 ± 0,45	5,26 ± 0,19
B5	1,23 ± 0,02	0,15 ± 0,00	15,24 ± 0,11	4,95 ± 0,08
Ac. ascorbico	-	-	6,02 ± 0,10	-
Trolox	-	-	-	3,42 ± 0,06

^a valor médio ± desvio padrão, n = 3. Fonte: MORENO, 2019

2.5 CONCLUSÃO

As análises palinológicas das cinco amostras de méis analisadas da abelha branca mostraram a presença de sete famílias botânicas diferentes, que foram a Fabaceae com sete tipos polínicos, seguido da Malvaceae com três, Anacardeaceae com dois e as demais Euphorbiaceae, Myrtaceae, Poaceae e Solanaceae com um tipo polínico. A predominância foi de dois principais tipos polínicos, um relativo a plantas do gênero *Schinus* (Anacardeaceae), com variação de 11 a 36 %, e outro de *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae), com variação de 29 a 34 %, classificada como heterofloral.

As análises físico-químicas mostraram um perfil similar nas amostras analisadas (pH – 3,68 - 3,92; acidez livre 85,83 - 103,33 meq.kg⁻¹; atividade de água 0,70 - 0,76; umidade 26,66 - 27,46 %; condutividade 587,66 - 651,66 µS.cm⁻¹; açúcar redutor 59,44 – 60,76 %; HMF 3,04 – 5,23 mg. Kg⁻¹; e teor de cinzas 0,18 – 0,26 %), contribuindo estes resultados para o conhecimento da espécie *Frieseomelitta doederleini* (abelha branca) para possíveis normas futuras de qualidade de abelhas sem ferrão. Entre os minerais analisados o potássio (1145,73-1334,07 mg.Kg⁻¹) foi o mais abundante, seguido do magnésio (35,19-40,31 mg.Kg⁻¹).

Os méis apresentam potencial antioxidante, demonstrado pela atividade antirradicalar frente ao DPPH (10,28-15,24 mg mL⁻¹) e ABTS (4,21-5,26 mg mL⁻¹).

Pela análise de UPLC-DAD-qTOF-MS/MS foi possível identificar o mel da abelha branca 32 principais substâncias, sendo todos derivados fenólicos. Apenas três compostos não são flavonoides agliconas: ácido elágico, dihidroxicumarina e isoramnetina-glicosídeo. Dos 29 flavonoides agliconas identificados 21 são flavonas/flavonois e 8 são flavanonas/flavanonois.

A abelha branca apresenta um forrageamento específico para as espécies vegetais nativas da Caatinga brasileira.

REFERÊNCIAS

- ACQUARONE, C.; BUERA, P.; ELIZALDE, B. Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. **Food Chemistry**, v. 101, p. 695–703, 2007.
- ALVES DE SOUZA, S.; CAMARA, C. A.; MONICA SARMENTO DA SILVA, E.; SILVA, T. M. S. Composition and Antioxidant Activity of Geopropolis Collected by *Melipona subnitida* (Jandaíra) Bees. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–5, 2013.
- ALMEIDA FILHO, J. P.; MACHADO, A. V.; ALVES, F. M. S.; QUEIROGA, K. H.; CÂNDIDO, A. F. M. Estudo Físico-químico e de qualidade do mel de abelha comercializado no município de Pombal--PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, Mossoró**, v. 6, p. 83–90, 2011.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; GIAMPIERI, F.; BRENCIANI, A.; MAZZONI, L.; GASPARRINI, M.; GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; MORRONI, G.; SIMONI, S.; FORBES-HERNÁNDEZ, T. Y.; OTHERS. *Apis mellifera* vs *Melipona beecheii* Cuban polyfloral honeys: A comparison based on their physicochemical parameters, chemical composition and biological properties. **LWT**, v. 87, p. 272–279, 2018.
- ANVISA, A. N. de V. S. Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. **Diário Oficial da União**, 2012.
- ATTANZIO, A.; TESORIERE, L.; ALLEGRA, M.; LIVREA, M. A. Monofloral honeys by Sicilian black honeybee (*Apis mellifera* ssp. sicula) have high reducing power and antioxidant capacity. **Heliyon**, v. 2, p. e00193, 2016.
- 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. **Food Research International**, v. 123, p. 1–10, 2019.
- ÁVILA, S.; BEUX, M. R.; RIBANI, R. H.; ZAMBIAZI, R. C. Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health-promotion properties and modification detection strategies. **Trends in Food Science and Technology**, v. 81, p. 37–50, 2018.
- BARTH, O. M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v. 61, p. 342–350, 2004.
- BARROS, M. H. M. R.; LUZ, C. F. P. Da; ALBUQUERQUE, P. M. C. De. Pollen analysis of geopropolis of *Melipona* (Melikerria) *fasciculata* Smith, 1854 (Meliponini, Apidae, Hymenoptera) in areas of Restinga, Cerrado and flooded fields in the state of Maranhão, Brazil. **Grana**, v. 52, p. 81–92, 2013.
- BASA, B.; BELAY, W.; TILAHUN, A.; TESHAE, A. Review on medicinal value of honeybee products: apitherapy. **Advances in Biological Research**, v. 10, p. 236–247, 2016.
- BRAZIL. Regulamento Técnico de Identidade e Padrão do mel elaborado pelas abelhas da subfamília Meliponinae (Hymenoptera, Apidae), conhecidas por Abelhas sem Ferrão-ASF e os requisitos de processamento e segurança alimentar para seu consumo humano direto. 2017.

BOUSSAID, A.; CHOUAIBI, M.; REZIG, L.; HELLAL, R.; DONS, I. F.; FERRARI, G.; HAMDI, S. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, p. 265–274, 2018.

BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, p. 2774–2779, 2001.

CALDAS, F. R. L.; AUGUSTO FILHO, F.; FACUNDO, H. T.; ALVES, R. F.; DOS SANTOS, F. de A. R.; SILVA, G. R. Da; CAMARA, C. A.; SILVA, T. CHEMICAL COMPOSITION, ANTIRADICALAR AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FABACEAE POLLEN BEE. **Química Nova**, v. 42, p. 49–56, 2019.

CAMARGO, R. C. R. De; OLIVEIRA, K. L. De; BERTO, M. I. Stingless bee honey: technical regulation proposal. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017.

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

DA SILVA, G. R.; DA NATIVIDADE, T. B.; CAMARA, C. A.; DA SILVA, E. M. S.; DOS SANTOS, F. de A. R.; SILVA, T. M. S. Identification of sugar, amino acids and minerals from the pollen of jandaíra stingless bees (*Melipona subnitida*). **Food and Nutrition Sciences**, v. 05, p. 1015–1021, 2014. a.

DA SILVA, G. R.; DA NATIVIDADE, T. B.; CAMARA, C. A.; DA SILVA, E. M. S.; DOS SANTOS, F. de A. R.; SILVA, T. M. S. Identification of sugar, amino acids and minerals from the pollen of Jandaíra stingless bees (*Melipona subnitida*). **Food and Nutrition Sciences**, v. 5, p. 1015, 2014. b.

DA SILVA, I. A. A.; DA SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; QUEIROZ, N.; MAGNANI, M.; DE NOVAIS, J. S.; SOLEDADE, L. E. B.; DE OLIVEIRA LIMA, E.; DE SOUZA, A. L.; DE SOUZA, A. G. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. **Food chemistry**, v. 141, p. 3552–3558, 2013.

DE SOUZA, S. A.; DA SILVA, T. M. G.; DA SILVA, E. M. S.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. Characterisation of phenolic compounds by UPLC-QTOF-MS/MS of geopropolis from the stingless bee *Melipona subnitida* (jandaíra). **Phytochemical analysis**, v. 29, p. 549–558, 2018.

DOS SILVA, A. S.; ALVES, C. N.; DAS FERNANDES, K. G.; MÜLLER, R. C. S. Classification of honeys from Pará State (Amazon Region, Brazil) produced by three different species of bees using chemometric methods. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 1135–1145, 2013.

ERDTMAN, G. The acetolysis method-a revised description. **Sven Bot Tidskr**, v. 54, p. 516–564, 1960.

FELSNER, M. L.; CANO, C. B.; BRUNS, R. E.; WATANABE, H. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. De; MATOS, J. do R. Characterization of monofloral honeys by ash contents through a hierarchical design. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 737–747, 2004.

FERNANDES, José. **Abelha sem ferrão *Frieseomelitta doederleini***. 2018. 4 fotografia.

- FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. Atheneu, 2005.
- GHISALBERTI, E. L. Propolis: A Review. **Bee World**, v. 60, p. 59–84, 2015.
- HARVEY, A. L. Natural products as a screening resource. **Current opinion in chemical biology**, v. 11, p. 480–484, 2007.
- HOLANDA, C. A.; OLIVEIRA, A. R.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. de S.; SOUZA, J. L.; ARAÚJO, M. J. A. M. Qualidade dos méis produzidos por *Melipona fasciculata* Smith da região do cerrado maranhense. **Química Nova**, p. 55–58, 2012.
- HUCK, C. W.; HUBER, C. G.; ONGANIA, K.-H.; BONN, G. K. Isolation and characterization of methoxylated flavones in the flowers of *Primula veris* by liquid chromatography and mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 870, p. 453–462, 2000.
- KHALIL, M.; MONIRUZZAMAN, M.; BOUKRAÂ, L.; BENHANIFIA, M.; ISLAM, M.; SULAIMAN, S. A.; GAN, S. H.; OTHERS. Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. **Molecules**, v. 17, p. 11199–11215, 2012.
- LAMBERT, J. B.; HECKENBACH, E. A.; WU, Y.; SANTIAGO-BLAY, J. A. Characterization of plant exudates by principal-component and cluster analyses with nuclear magnetic resonance variables. **Journal of Natural Products**, v. 73, p. 1643–1648, 2010.
- LANGENHEIM, J. H. **Plant resins: chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany**. Oregon, US: Timber Press, 2004.
- LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; DA SILVA, J. M. C. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Editora Universitária UFPE, 2003.
- LIBERATO, M. da C. T. C.; MORAIS, S. M. De; MAGALHÃES, C. E. de C.; MAGALHÃES, I. L.; CAVALCANTI, D. B.; SILVA, M. M. de O. Physicochemical properties and mineral and protein content of honey samples from Ceará State, Northeastern Brazil. **Food Science and Technology**, v. 33, p. 38–46, 2013.
- LIRA, A. F.; SOUSA, J. P. L. de M.; LORENZON, M. C. A.; VIANNA, C. A. F. J.; CASTRO, R. N.; OTHERS. Comparative study of honeys produced by *Apis mellifera* with meliponina honeys. v. 8, p. 169–178, 2014.
- LIMA, S. Y. **Origem Botânica do Mel e Pólen de Abelhas Mandaçaia (Melipona mandacaia) no município de Petrolina - PE**. 2017. Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petronila, PE, 2017.
- 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.
- MA, Y. L.; LI, Q. M.; DEN HEUVEL, H.; CLAEYS, M. Characterization of flavone and flavonol aglycones by collision-induced dissociation tandem mass spectrometry. **Rapid communications in mass spectrometry**, v. 11, p. 1357–1364, 1997.
- MAIA-SILVA, C.; SILVA, C. I. Da; HRNCIR, M.; QUEIROZ, R. T. De; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Guia de plantas: visitadas por abelhas na Caatinga**, 2012.

MATOS, V. R.; ALENCAR, S. M.; SANTOS, F. A. R. Pollen types and levels of total phenolic compounds in propolis produced by *Apis mellifera* L. (Apidae) in an area of the Semiarid Region of Bahia, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 86, p. 407–418, 2014.

NANDA, V.; SARKAR, B. C.; SHARMA, H. K.; BAWA, A. S. Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 613–619, 2003.

ODAIR ZENEBON. NEUS SADOCCO PASCUET. PAULO TIGLEA. **1ª Edição Digital**. IV ed. São Paulo, 2008.

Oliveira, F.; Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2003

RIKKINEN, J.; BEIMFORDE, C.; SEYFULLAH, L. J.; PERRICHOT, V.; SCHMIDT, K.; SCHMIDT, A. R. Resinogalea humboldtensis gen. et sp. nov., a New Resinicolous Fungus from New Caledonia, Placed in Bruceomycetaceae fam. nova (Ascomycota). In: ANNALES BOTANICI FENNICI 2016.

SILVA, T. M. G.; DA SILVA, P. R.; CAMARA, C. A.; DA SILVA, G. S.; DE ASSIS, R.; SILVA, T. M. S. Análises químicas e potencial antioxidante do mel de Angico produzido pelas abelhas sem-ferrão jandaíra. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1370–1379, 2014. a.

SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; DA SILVA LINS, A. C.; MARIA BARBOSA-FILHO, J.; DA SILVA, E. M. S.; FREITAS, B. M.; DE ASSIS RIBEIRO DOS SANTOS, F. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 507–511, 2006.

SILVA, T. M. S.; DE SOUZA, S. A.; DIAS, T. L. M. F.; SILVA, T. M. G.; FALCÃO, R. A.; MOREIRA, M. S. A.; SILVA, E. M. S.; CAMARA, C. A. Chemical composition, antinociceptive and free radical-scavenging activities of geopropolis from *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Sociobiology**, v. 61, p. 560–565, 2014. b.

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

SILVA, J. C.; RODRIGUES, S.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L. M. Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 1790–1795, 2012.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. 2002.

SOUZA, S. A.; DIAS, T. L. M. F.; SILVA, T. M. G.; FALCÃO, R. A.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; SILVA, E. M. S.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. Chemical composition, antinociceptive and free radical-scavenging activities of geopropolis from *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Sociobiology**, 2014.

TEIXEIRA, A. F. R.; OLIVEIRA, F. F. De; VIANA, B. F. Utilization of floral resources by bees of the genus *Frieseomelitta* von Ihering (Hymenoptera: Apidae). **Neotropical entomology**, v. 36, p. 675–684, 2007.

TSIMOGLIANNIS, D.; SAMIOTAKI, M.; PANAYOTOU, G.; OREOPOULOU, V. Characterization of flavonoid subgroups and hydroxy substitution by HPLC-MS/MS. **Molecules**, v. 12, p. 593–606, 2007.

WILFRED, V.; NICHOLSON, R. **Phenolic compound biochemistry**. Springer, 2006.

WYREPKOWSKI, C.; DA COSTA, D.; SINHORIN, A.; VILEGAS, W.; DE GRANDIS, R.; RESENDE, F.; VARANDA, E.; DOS SANTOS, L. Characterization and quantification of the compounds of the ethanolic extract from *Caesalpinia ferrea* stem bark and evaluation of their mutagenic activity. **Molecules**, v. 19, p. 16039–16057, 2014.

XU, T.; YANG, M.; LI, Y.; CHEN, X.; WANG, Q.; DENG, W.; PANG, X.; YU, K.; JIANG, B.; GUAN, S.; OTHERS. An integrated exact mass spectrometric strategy for comprehensive and rapid characterization of phenolic compounds in licorice. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 27, p. 2297–2309, 2013.

YADATA, D. Detection of the electrical conductivity and acidity of honey from different areas of Tepi. **Food Science and Technology**, v. 2, p. 59–63, 2014.

3 ANÁLISES MELISSOPALINOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS, ATIVIDADE ANTIRRADICALAR E PERFIL QUÍMICO POR UPLC-DAD-QTOF-MS/MS DOS MÉIS DE *APIS MELLIFERA* E *MELIPONA MANDACAIA* (MANDAÇAIA)

3.1 INTRODUÇÃO

O mel das abelhas sem ferrão e *Apis* são produtos naturais produzidos e comercializados em todo o mundo. Eles contêm compostos únicos e diferentes que apresenta importância nutricional e biológica variável. O mel das abelhas sem ferrão é um produto popular e apresenta doçura diferente, mistura com um sabor ácido e textura fluida, possuindo maior valor agregado do que o mel de *A. mellifera*. A produção é relativamente baixa, quando comparada com a de *mellifera*, este produto natural precisa que sejam estabelecidos padrões e metodologias oficiais a nível nacional e internacional para servir como referência para o controle de qualidade (ÁVILA et al., 2018). O sabor, aroma e a sua composição química, estão associados fortemente com a suas condições ambientais, origem botânica e área geográfica, condições de armazenamento e as espécies de abelhas envolvidas na produção (DA COSTA et al., 2018).

O mel das meliponas também contém ácidos orgânicos, flavonoides e uma ampla variedade de outros compostos orgânicos que contribuem para a sua cor, odor e sabor (SILVA et al., 2013). É um dos alimentos naturais mais complexos, possui quantitativamente um maior teor de umidade, maior acidez, um nível ligeiramente mais baixo de carboidratos totais do que o das *Apis mellifera* (ÁVILA et al., 2018).

As abelhas sem ferrão fazem parte de uma classe de abelhas eussociais disseminadas em todas as regiões tropicais do mundo. Elas são encontradas na África, América do Sul e Central, Austrália e sudoeste da Ásia. Pertencem à família Hymenoptera e à subfamília Meliponinae. Existem mais de 500 espécies identificadas em todo o mundo distribuídas em 32 gêneros, com aproximadamente 100 novas espécies ainda a serem caracterizadas (MICHENER, 2013; RASMUSSEN, 2008).

No Brasil, existem mais de 300 espécies de abelhas nativas sendo encontradas principalmente nas regiões Norte e Nordeste, devido a criação racional de várias espécies. Na Caatinga são conhecidas 187 espécies, a maioria delas considerada como espécies raras (ZANELLA; MARTINS, 2003), sendo as mais abundantes a jandaíra (*Melipona subnitida*), jataí (*Tetragonisca angustula*), amarela (*Frieseomelitta varia*), moça-branca (*Frieseomelitta doederleini*), arapuá (*Trigona spinipes*), cupira (*Partamona seridoensis*), mandacaia (*Melipona mandacaia*), canudo (*Scaptotrigona depilis*), limão (*Lestrimelitta limao*), munduri (*Melipona*

marginata). Outras espécies de abelhas de hábitos solitários também são abundantes e de grande importância ecológica (MAIA-SILVA et al., 2012).

As abelhas sem ferrão do gênero *Melipona* pertencem a tribo Meliponini são encontradas exclusivamente nos neotrópicos que ocorre desde o México a Argentina, como as demais abelhas, são de grande importância ecológica e econômica devido a polinização das plantas nativas e cultivadas e incluem diversas espécies como mandaçaia (*Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1936), urucu-verdadeira (*M. scutellaris* Latreille, 1811), urucu-boca-de-renda (*M. seminigra* Friese, 1903), urucu-amarela (*M. mondury* Smith, 1863), guaraipo (*M. bicolour* Lepeletier, 1836) e Manduri (*M. marginata* Lepeletier, 1836) (KERR et al., 1996; NOGUEIRA NETO, 1997). A *Melipona mandacaia* é uma abelha responsável pela polinização de muitas plantas nativas do Brasil. Apesar de sua importância ecológica e econômica, populações naturais de *M. mandacaia* foram esgotados por causa do desmatamento (PRADO-SILVA et al., 2016).

A espécie *M. mandacaia* popularmente conhecida como mandaçaia ou mandaçaia menor é endêmica do bioma Caatinga e está muito estendida entre os estados da Bahia, Ceará, Paraíba, Piauí e Pernambuco geralmente na região do Vale do São Francisco (BATALHA-FILHO; WALDSCHMIDT; ALVES, 2011; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002)

É uma abelha muito importante para a meliponicultura nos municípios de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA), onde são utilizadas para produção de mel, sendo a abelha mais utilizada para essa prática na meliponicultura local, a redução dessa espécie vem sendo relatada na região (BRAGA et al., 2012). Pouco se sabe sobre o nicho trófico dessa espécie, mas estudos recentes sobre os tipos polínicos encontrados nas células de estocagem das colmeias de *M. mandacaia*, apresentam dados importantes sobre sua polinização, principalmente no que se refere a espécies comuns da região do semiárido como, como plantas da família Fabaceae: *Leucaena leucocephala*, *Mimosa pudica* (dormideira), *Melochia* sp, *Ipomoea cairica* L. (jitirana) e *Spondias tuberosa* L. (umbuzeiro) (CARNEIRO-NETO et al., 2017; PRADO-SILVA et al., 2016).

Devido à sua importância e endemismo, a mandaçaia (*Melipona mandacaia*) tem sido alvo de pesquisas, principalmente pelo fato de haver poucas informações sobre a espécie, junto a grande procura para a criação racional e comercialização dos seus produtos (SOUZA et al., 2009). Existem poucas pesquisas relacionadas aos parâmetros físico químicos do mel dessas abelhas segundo Ávila et al., (2018) sendo encontrado a penas tem registro de caracterização dos parâmetros físico químicos.

Por tanto o estudo dos parâmetros físico químicos do mel *Melipona mandacaia* pode contribuir para o conhecimento desse produto e possível atualização da legislação de méis de abelhas sem ferrão.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo geral

Analisar a composição polínica, química (UPLC-DAD-QTOF-MS/MS), parâmetros físico-químicas, teor de fenólicos totais e potencial antioxidante das amostras de mel das abelhas mandaçaia (*Melipona mandacaia*) e *Apis mellifera*.

3.2.2 Objetivos específicos

- Determinar a origem botânica das amostras de mel das abelhas mandaçaia (*Melipona mandacaia*) e *Apis mellifera*;
- Determinar os parâmetros físico-químicos: umidade; cinzas (g.100g^{-1}), pH, acidez livre (mequiv. Kg^{-1}); condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}$), hidroximetilfurfural (HMF) (mg. Kg^{-1}), atividade de água e açúcares redutores (g.100g^{-1});
- Avaliar a composição dos fenólicos por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS e atividade antirradicalar dos méis;
- Determinar a concentração dos fenólicos totais, de flavonoides e potencial antioxidante dos méis.

3.3 PARTE EXPERIMENTAL

3.3.1 Coleta das amostras

Os méis de *Apis melífera* e da abelha sem ferrão Mandaçaia (*Melipona mandacaia*) foram coletados na região ao entorno do Lago de Sobradinho pela professora Dra. Eva Mônica Sarmentos da Silva. Cadastro nº A471564 e A43E41B no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético respectivamente. As cidades onde foram coletados estão na Tabela 7, Figura 9.

Tabela 7– Amostras dos méis de *Apis mellifera* e *Mandaçaia* (*Melipona mandacaia*)

<i>Melipona mandacaia</i>			<i>Apis mellifera</i>		
Código	Local de Coleta	Data	Código	Local de Coleta	Data
M1-M4	Remanso - BA	02/16	A1-A2	Remanso - BA	03/16
M5	Remanso - BA	12/15	A3-A4	Pilão Arcado-BA	03/16
M6	Remanso - BA	05/15	A5-A6	Sento Se - BA	03/16
M8	Sobradinho- BA	03/16	A7-A8	Petrolina -PE	02/16
M9	Pilão Arcado-BA	03/16	A9-A12	Remanso - BA	06/16
M18-M29	Remanso - BA	06/16	A13	Petrolina -PE	11/16
M30-M31	Remanso - BA	09/16	A14	Petrolina -PE	11/16
M32-M33	Remanso - BA	09/16			
M34-M35	Remanso - BA	09/16			
M37	Remanso - BA	10/16			
M38	Remanso - BA	10/16			
M39	Remanso - BA	11/16			
M40	Remanso - BA	11/16			
M41-M42	Remanso - BA	12/16			
M43-M44	Remanso - BA	02/17			
M45	Remanso - BA	04/17			

Fonte: MORENO, 2019

A metodologia das análises físico-químicas, análises melissopalínológicas, extração dos compostos orgânicos do mel em fase sólida (SPE), determinação do teor de fenólicos, flavonoides totais, atividade antirradicalar, análises por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS e as análises estatísticas foram realizadas de acordo com o descrito no capítulo I (páginas de 24 até 28).

Figura 9– Mapa das cidades das coletas das amostras dos méis do estado de Bahia



3.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.1 Análises melissopalínológicas

O grão de pólen apresenta parede externa quimicamente estável e morfologicamente variada, o que permite, através da análise palinológica das cargas de pólen coletadas pelas abelhas, a identificação dos tipos polínicos constituintes e a determinação da origem botânica e geográfica das amostras (BARTH, 2004).

As análises melissopalínológicas das catorze amostras dos méis coletados de *Apis mellifera* (Tabela 8) mostraram a presença de vinte famílias botânicas diferentes, que foram a Fabaceae com vinte e um tipos polínicos, seguido de Malvaceae com sete, Euphorbiaceae com quatro, Asteraceae e Rubiaceae com três, Curcubitaceae com dois e as demais Amaranthaceae, Anacardeaceae, Lamiaceae, Melastomataceae, Moringaceae, Nyctaginaceae, Polygonaceae, Poaceae, Phyllanthaceae, Phytolaccaceae, Plantaginaceae, Rhamnaceae, Sapindaceae, Verbenaceae com um tipo polínico. Entre eles, observou-se que mostraram a predominância de tipos polínicos da família Fabaceae, em sua maioria da espécie do gênero *Mimosa tenuiflora*, que apresentou uma variação de 47,7 a 88%, para as amostras de A1 até A9 e a amostra A14, que foram classificadas como monofloral (Tabela II.2). Na amostra A10 foi identificado outro tipo polínico, Fabaceae 7 com 84 % de frequência polínica, na amostra A12 encontrou outro tipo referente ao gênero *Senegalia* (Fabaceae), com 69.9 % de frequência polínica, sendo os dois considerados como monofloral para estas espécies. O pólen apícola ou meliponícola só é considerado monofloral quando apresenta predominância com mais de 45% de uma determinada espécie vegetal. Na amostra A11 foi observada pólen acessório com uma frequência de 30% de *Mimosa tenuiflora*, 19 % de *Senegalia* (Fabaceae) e 18% de Fabaceae 7, como também uma quantidade significativa das espécies *Antigonon leptopus* (Polygonaceae) 32,9 %, *Sida galheirensis* (Fabaceae) 26,9 %, sendo classificado, portanto, como heterofloral (Tabela II.2). A única espécie vegetal que foi encontrada em todas as amostras de mel de *Apis mellifera* foi a Jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*), provavelmente o recurso floral estava disponível durante o período de coleta das amostras.

Grãos de pólen de várias outras espécies estavam presentes nas catorze amostras de mel de *Apis mellifera*, mas em pequenas quantidades, a família Fabaceae foi a mais representativa nas amostras dos méis de *Apis mellifera*. Vinte e duas amostras de própolis em uma região do Semiárido no Estado da Bahia (Agreste de Alagoinhas), Brasil, produzida por *Apis mellifera* foram analisadas palinologicamente e a família Fabaceae foi a mais representativa (MATOS; ALENCAR; SANTOS, 2014), compactuando com os resultados obtidos nas amostras de méis de *A. mellifera* analisadas mostrando ser uma fonte de recurso floral importante para estas abelhas.

Tabela 8– Análises melissopalínológicas das amostras do mel de *Apis mellifera*

Família	Espécie	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A 9	A10	A11	A12	A13	A14
Amaranthaceae	<i>Alternanthera</i>											0,9			
Anacardiaceae	<i>Spondias</i>											0,2			
Asteraceae	<i>Tridax procumbens</i> L.			5,3		1,6		2,4	6,8					5,7	
	<i>Mikania</i>											0,2			
	<i>Vernonanthura</i>											3,3			
Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i> L.			1			1,5								
	<i>Cucumis melo momordica</i>								2,2						
Euphorbiaceae											0,2				
	<i>Croton</i>									0,3		1,1	4,8	3,8	
	<i>Croton campestris</i> St Hil.		7,8	12,7	2	4,8	6,3								
	<i>Alchornea</i>									0,3					
	<i>Ricinus</i>											0,2			
Fabaceae	<i>Aeschynomene martii</i> Benth.				5,1		3,1								
	<i>Bauhinia</i>												1,3		
	<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.		14	4,2	6,1		3,1	3,6							
	<i>Chamaecrista</i>									1,5					
	<i>Dalbergia</i>										0,3				
	<i>Macroptilium atropurpureum</i>	1,7													
	<i>Mimosa acutistipula</i>									0,5	1,7	2,7	0,5		
	<i>Mimosa quadrivalvis</i>									1,8	8,9				
	<i>Mimosa pudica</i>									0,5					
	<i>Mimosa</i> sp.	3,5							2,2						
	<i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir.	88	75,4	74,4	81,6	61,2	76,1	60,2	47,7	54,4	0,5	30,7	14,9	21,1	66,6
	<i>Prosopis</i>									0,5	0,3				
	<i>Senegalia</i>											19,1	69,9		
	<i>Senna macranthera</i>									9,6	0,3		0,5		
	<i>Sida galheirensis</i> Ulbr													26,9	11,1
Fabaceae 2															
Fabaceae 3										0,3	1,3				
Fabaceae 5															
Fabaceae 6										0,8					
Fabaceae 7											84	18			
Fabaceae 8										6,1			0,5		
Lamiaceae	<i>Hyptis</i>										0,5	3,1			

[illegible]

NI_3 e NI_4: Tipos polínicos não identificados.

Fonte: MORENO, 2019

A partir da análise melissopalínológica das 35 amostras de méis de *M. mandacaia*, pode-se observar (Tabelas 9, 10 e 11) que mostraram a presença de vinte famílias botânicas diferentes, que a espécie mais representativa foi a *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae), compreendendo de 51,6 até 92,5% de frequência polínica das amostras estudadas, sendo classificada como pólen dominante em várias amostras. Das 35 amostras analisadas, apenas 8 não foram classificadas como monofloral para o pólen de *M. tenuiflora* (Figura 12) (Tabelas 9, 10 e 11). A amostra M04 apresentou o tipo polínico do gênero *Chamaecrista* (Fabaceae) com 55 %, a amostra M08 apresentou tipo polínico referente a espécie *Mimosa acutistipula* (Fabaceae) com 51,8 %, e as amostras M21, M23, M27 apresentou tipo polínico do gênero *Waltheria* (Malvaceae) 59,2; 58,8 e 88,6 %, respectivamente.

De forma geral, podemos perceber a preferência da *M. mandacaia* para as espécies da família Fabaceae em particular a *M. tenuiflora* (Figura 10), mas a mandacaia como observado na Tabela 10, também visita espécies da família Malvaceae, como o gênero *Waltheria*, que foi considerado dominante e monofloral para as amostras M21, M23 e M27, o segundo tipo polínico frequente foi *M. tenuiflora*. Os fatores que podem influenciar no resultado da frequência polínica destas três amostras, pode ser o período de florescência da *Waltheria*, dependendo da chuva, mostrando ser uma fonte de recurso floral importante para as abelhas (LOPES et al., 2016) ou o fator volumétrico poderia influenciar na determinação do tipo de pólen (DE FRANÇA ALVES; DOS SANTOS, 2018).

Figura 10– Inflorescência da espécie *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae) presente em todos os méis analisados



Fonte: SARMENTOS, 2018

Das amostras analisadas de *M. mandacaia* três foram classificadas como pólen heterofloral. A amostra M06 mostrou tipos polínicos do gênero *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae)

21 %, *Chamaecrista* (Fabaceae) com 37,8 % e a espécie do gênero *Anadenanthera* (Fabaceae) com 27,8 %. Já a amostra M26 apresentou tipos polínicos do gênero *Chamaecrista* (Fabaceae) 38,1 e *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae) 36,4 %, como os mais significativos, sendo que a amostra M28 mostrou uma quantidade expressiva de *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae) 42,2 %, e mais baixo de *Senna macranthera* (Fabaceae) 21,4 % e do gênero *Mimosa acutistipula* (Fabaceae) com 13,2 %.

A única espécie vegetal que foi encontrada em todas as amostras de mel de *Melipona mandacaia* foi a Jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*), provavelmente o recurso floral estava disponível durante o período de coleta das amostras, como também deve ocorrer uma preferência pelo o pólen dessa espécie vegetal (Figura 12), visto que Lima, 2017, trabalhando com origem botânica do mel e pólen de abelhas mandaçaia (*Melipona mandacaia*) em região Semiárida, verificou a presença de pólen dominante da jurema-preta no mel de mandaçaia durante todo o período estudado, algumas como pólen dominante e nas amostras que não foi dominante foi encontrado em quantidades significativas, menos nas amostras M08 e M27 que teve entre 7 a 10,9 %. Em um estudo realizado por Oliveira et al., (2017), para analisar o perfil palinológico de méis de abelhas sem ferrão do gênero *Melipona* do estado de Sergipe, mostrou que a amostra de *M. mandacaia* foi monoflora para o pólen de *Mimosa* spp. (Fabaceae). Assim como a *M. tenuiflora* já havia sido observado em méis coletados por outras espécies do gênero *Melipona* como a abelha jandaíra, a *Melipona subnitida* (SILVA et al., 2013).

Considerando as análises do alimento proteico das abelhas, a *M. tenuiflora* seguido por outras espécies da família Fabaceae, são os principais constituintes do pólen apícola das meliponas no período de seca em região semiárida. A jurema preta (*M. tenuiflora*), é uma espécie arbustiva que se reproduz durante um longo período do ano, mas principalmente durante a estação seca. Suas inflorescências são formadas por pequenas flores brancas (Figura 10), aroma doce e fornecem recursos florais como néctar e pólen para muitas espécies de abelhas, vespas, moscas e outros insetos. Esta espécie é muito importante para a manutenção da biodiversidade e do ecossistema (MAIA-SILVA et al., 2012). Após a Fabaceae, a família Malvaceae foi a mais representativa significativamente em algumas amostras, compreendendo a espécie *Waltheria* (Figura 11), outras famílias botânicas também estão presentes apenas no espectro polínico dos méis estudados em quantidades menos significativas.

Trabalho realizado por Braga et al., (2012), sobre avaliação dos tipos polínicos coletados pela *M. mandacaia* na região central do município de Petrolina-PE, demonstrou que elas visitam as diversas famílias botânicas, no entanto apenas duas são mais representativas, Fabaceae e Malvaceae, o que se assemelha com os resultados obtidos nesta pesquisa. Isto pode

indicar a preferência dessas abelhas por espécies de famílias botânicas, que pode atuar em conjunto com a florada acentuada e a proximidade da colmeia dos recursos polínicos.

Figura 11– Inflorescência da espécie vegetal *Waltheria* (Malvaceae) presente nos méis das amostras M21, M23, M27 de *Melipona mandacaia* analisados



Fonte: LIMA, 2018

Figura 12– Grãos de pólen da espécie *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae)



Fonte: SARMENTOS; LIMA; SANTOS, 2018.

Tabela 9– Frequência polínica das amostras M1 – M9 de méis de *Melipona mandacaia*

Tipos polínicos	Espécie	M01	M02	M03	M04	M05	M06	M08	M9
Anacardiaceae	<i>Schinus</i>	2,1	15,1	0,3		1,5	1,3		
	<i>Spondias</i>		2,5			0,6			
Euphorbiaceae		28,6	0,9	0,3	0,3	1,2		23,1	
Fabaceae	<i>Anadenanthera</i>	3,8	0,9		1,2	5,6	27,8		
	<i>Chamaecrista</i>	4,5	4,7	0,7	55,0	19,8	37,9	9,6	
	Fabaceae 1		0,3						
	Fabaceae 2					0,3			
	<i>Libidibia ferrea</i>								1,82
	<i>Leucaena leucocephala</i>								
	<i>Mimosa acutistipula</i>	0,3			2,3	3,0	1,3	51,8	
	<i>Mimosa arenosa</i>					0,3			
	<i>Mimosa pudica</i>						1,0		
	<i>Mimosa subenervis</i>	2,8	1,3	2,3	0,9	2,7	1,9	2,3	
	<i>Mimosa tenuiflora</i>	51,6	56,5	92,5	29,7	63,6	21,0	7,0	67,27
	<i>Piptadenia stipulacea</i>								14,54
	<i>Prosopis</i>	0,7	0,6				3,6	0,3	
	<i>Senna macranthera</i>	3,8	7,9	3,9	0,6	1,2	1,6		
Lamiaceae	<i>Hyptis</i>							0,3	
Malvaceae	<i>Pseudobombax</i>		0,6						3,64
	<i>Sida galheirensis</i>								
	<i>Waltheria</i>						2,6		5,45
Myrtaceae	<i>Myrcia</i>	1,7	0,9		0,3			1,4	
	<i>Eucalyptus</i>								7,27
Phytolaccaceae	<i>Microtea</i>							0,3	
Rubiaceae	<i>Borreria</i>							3,7	
	<i>Diodia</i>							0,3	
Indeterminados*		7,6		9,8	0,3				
		(1)		(1)	(1)	(3)			
Total		100	100	100	100	100	100	100	100

Fonte: MORENO, 2019

<i>Borreria</i>				0,2									
Solanaceae													
<i>Solanum</i>				0,3								0,7	
Indeterminados*	0,3	4,1	0,2	0,2				0,2	4,7	0,8	12,5	0,4	
	(1)	(3)	(1)	(1)				(1)	(2)	(1)	(1)	(1)	
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 11– Frequência polínica das amostras M30 – M45 de méis de *Melipona mandacaia*

Família	Espécie	M 30	M 31	M 32	M 33	M 34	M 35	M 37	M 38	M 39	M 40	M 41	M 42	M 43	M 44	M 45
Asteraceae	<i>Elephantopus</i>														6,8	
	<i>Vernonia</i>														3,4	1,1
Acanthaceae	<i>Ruellia asperula</i> (Mart. ex Ness)							0,5								
	<i>Lindau</i>								0,4							
Bombacaceae	<i>Pseudobombax tomentosum</i> (Mart.)	2,9	2,1	2,0		3,9		2,6	2,5							
Capparaceae	<i>Cleome hassleriana</i>											0,7				
Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i> L.	0,7				1,4										
	<i>Cucumis melo momordica</i>							0,2								
Euphorbiaceae	<i>Croton campestris</i> St Hil.	4,3	5,0		2,1	2,1		1,0				0,3	0,3			
	<i>Croton</i>													10,8		4,6
	<i>Aeschynomene martii</i> Benth.	4,6	6,1	3,1		6,1	7,6	5,6	3,4	0,6		2,8	4,0			
	<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.	6,3	8,2	5,4	8,4	10,8	5,7	7,4	5,1	5,4	14,0		2,7			
	<i>Cratylia mollis</i> Mart. ex Benth.				0,2											
Fabaceae	<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit	2,6	1,5	1,0	5,8		2,7		0,4		6,6		1,7			
	<i>Chamaecrista</i> sp															6,9
	<i>Libidibia ferrea</i>													7,2	10,2	
	<i>Mimosa</i> sp.	5,0	5,3		3,4	1,4				1,3	4,0	31,0	20,7			
	<i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir.	72,8	68,6	77,9	79,3	72,4	81,9	80,2	86,5	87,8	74,0	64,9	68,0	72,0	64,1	52,8
	<i>Neptunia plena</i> (L.) Benth					1,0		2,1					0,3			
	<i>Piptadenia</i>													4,5	8,55	
	<i>Poincianella pyramidalis</i>															20,6
	<i>Senna</i> sp.															8,04
Lamiaceae	<i>Ocimum basilicum</i> var. <i>pilosum</i>				0,5											
	<i>Hyptis</i>													2,7		
Malvaceae	<i>Pseudobombax tomentosum</i>													1,8	5,13	
	<i>Sida galheirensis</i>													0,9		2,3
	<i>Waltheria</i> sp.															3,4
	<i>Waltheria rotundifolia</i> Schrank										0,6					
Nyctaginaceae	<i>Boerhavia diffusa</i> L.			0,7		0,3				1,3						
Rhamnaceae	<i>Zizyphus joazeiro</i> Mart.	0,4														
Rubiaceae	<i>Borreria verticillata</i> (L.) G. Mey.			3,8												
Turneraceae	<i>Turnera ulmifolia</i> L.						0,5				0,3					
Verbenaceae	<i>Lantana</i> sp.									0,6	0,7					
	NI_1		2,9	2,8						1,3			2,0			
Myrtaceae	<i>Psidium</i> L.(<i>Psidium guajaba</i> L.,)			2,8	1,3				1,2							
	NI_3									0,6					1,7	
Total		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fonte: MORENO, 2019

3.1.2 Análise físico química das amostras de *Apis mellifera* e *Melipona mandacaia*

O mel tem a sua autenticidade dos parâmetros físico-químicos estabelecidos pela regulamentação nacional (BRASIL, 2000) e internacional (CODEX, 2001) para abelhas *Apis*, que consideram os requisitos máximos e mínimos para a padronização do produto, garantindo uma qualidade e igualdade na comercialização. Os comitês normativos avaliam as propriedades sensoriais como a cor, sabor e aroma e os parâmetros de maturidade, pureza e deterioração do mel.

Em 2017 foi aprovado Regulamento Técnico de Identidade e Padrão do mel produzido pelas abelhas da subfamília Meliponinae (abelhas sem ferrão), para contemplar os requisitos de processamento e segurança alimentar para o consumo humano direto.

Para a comercialização do mel as normativas avaliam o teor de açúcares redutores, e umidade, e para a determinação da pureza consideram o teor de cinzas, condutividade elétrica, e para a deterioração do mel é verificada pela avaliação do conteúdo de hidroximetilfurfural (HMF), acidez livre, entre outros. O resultado das análises físico-químicas dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona mandacaia* estão apresentados na Figura 13 e nas Tabela 12 e 13, respectivamente.

3.1.2.1 Análise de pH

Os valores de pH para as amostras de *A. mellifera* variaram de 3,37 a 4,55 quando comparado com os valores reportados para os méis de abelhas *A. mellifera* na regulamentação do Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 2000) e compactuam relativamente com os resultados de quarenta e nove amostras (monoflorais e heterofloral) encontrados (DO NASCIMENTO et al., 2018).

Já para as amostras dos méis de *M. mandacaia* o pH teve uma variação de 3,08 a 3,65, que corresponde com os valores reportados para os méis de abelhas nativas do estado de São Paulo, de acordo com a Resolução SAA-32 (BRASIL, 2017) e ainda corroboram com o estudo

de méis de abelhas nativas que apresentou uma variação de 2,93 a 4,77 (ÁVILA et al., 2018). Alves et al., (2005) mostrou resultados parecidos para méis de mandaçaia, onde o pH apresentaram uma media $3,27 \pm 0,09$ para 20 amostras analisadas (ALVES et al., 2005).

Os valores baixos de pH dos méis inibem a presença e crescimento de micro-organismos. Esse parâmetro é muito importante para o armazenamento e influencia na estabilidade durante a estocagem do mel podendo estar diretamente relacionado com a composição florística nas áreas de coleta, além das diferenças na composição do solo ou associação com outras espécies vegetais (CRANE, 1983).

3.1.2.2 Acidez livre

Os valores da acidez variaram entre 19,16 e 52,51 meq kg⁻¹, sendo que uma amostra ficou ligeiramente acima de 50 meq kg⁻¹ que é o permitido para a legislação de abelhas *Apis mellifera*. De forma relativamente semelhante a acidez livre foi encontrado para amostras de *Apis mellifera* (DO NASCIMENTO et al., 2018). Os valores da acidez para o méis de mandaçaia variaram entre 28,33 e 105,33 meq.kg⁻¹ (Figura 13, Tabela 13), sendo acima de 50 meq kg⁻¹ para a maioria das amostras, que é o permitido para abelhas sem ferrão, valores semelhantes aos analisados por Ávila.et al., (2018).

A variação pode ser por conta de vários fatores, incluindo o armazenamento das amostras antes das análises, variação dos ácidos orgânicos causada pelas diferentes fontes de néctar, ação das bactérias durante a maturação do mel, quantidade de minerais presentes, entre outros parâmetros não identificados. A acidez pode ser um indicativo de fermentação de açúcares em ácidos orgânicos (KHALIL et al., 2012).

3.1.2.3 Atividade de água

Os valores da atividade de água para as catorze (14) amostras dos méis de *Apis mellifera* variaram de 0,44 a 0,63. Já as trinta e cinco (35) amostras dos méis de *M. mandacaia* variaram de 0,63 a 0,74 (Figura 13, Tabela 13), estando dentro das normas publicadas para os méis das abelhas nativas, que é de 0,80 (BRAZIL, 2017).

A atividade de água é um parâmetro importante para avaliar o estado e a estabilidade relativa, no que diz respeito às propriedades físicas de qualquer alimento, velocidade das reações de alteração e atividade enzimática, assim como crescimento e desenvolvimento de microrganismos (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

3.1.2.4 Umidade

Para umidade dos méis de *A. mellifera* os valores foram de 16,33 a 19,03%, permitidos para o mel destas abelhas que é no máximo 20g /100 g. De forma relativamente semelhante foi encontrado para amostras de *Apis mellifera* (DO NASCIMENTO et al., 2018), e nas que foram analisadas (ÁVILA et al., 2018). Os méis de mandacaia, apresentaram valores entre 21,43 a 31,53 %, esses valores foram parecidos aos analisados de méis de abelhas sem ferrão (ÁVILA et al., 2018) (13,26 a 56,27), e semelhantes aos encontrados por Alves et al., (2005) ($28,78 \pm 2,73$) para *M. mandacaia*.

Esses valores são permitidos para o mel de abelhas nativas *in natura* (mel extraído dos potes e mantido sob refrigeração logo após a sua coleta até o momento do consumo, não submetido a qualquer outro processamento), pasteurizado (mel que após a extração passa por processo térmico de pasteurização para redução e/ou inibição do desenvolvimento microbiológico e/ou da atividade enzimática no produto, sendo posteriormente mantido à temperatura ambiente ou sob refrigeração) ou maturado (mel que após a extração passa pelo processo de maturação em temperatura ambiente, caracterizado por sua fermentação natural, a partir do desenvolvimento das leveduras osmofílicas naturalmente presentes) de abelhas nativas que é no máximo 40g 100g⁻¹ (BRASIL, 2017).

O teor de umidade alto resulta em um mel menos viscoso, sendo uma característica única para os méis das abelhas nativas. A quantidade de água no mel de meliponíneos é considerada o grande diferencial deste produto em relação ao mel de *Apis mellifera* (LIRA et al., 2014).

3.1.2.5 Condutividade

A análise da condutividade das amostras de *A. mellifera* mostrou valores que variaram de 196,66 a 520,00 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$. Valores relativamente semelhantes foram encontrados para amostras de *Apis mellifera* (DO NASCIMENTO et al., 2018). Não há valores para a condutividade, estabelecidos pela legislação brasileira. A análise da condutividade das amostras de *M. mandacaiá* mostrou valores que variaram de 196,66 a 576,33 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Figura 13, Tabela 13), encaixados nos encontrados. para *Melipona mandacaiá* (ALVES et al., 2005) ($352,25 \pm 48,71$) e para amostras analisadas para abelhas sem ferrão (ÁVILA et al., 2018) (25 -1337).

A condutividade elétrica do mel está diretamente relacionada com a origem floral e depende da concentração dos sais minerais, ácidos orgânicos, proteínas e outras substâncias (ACQUARONE; BUERA; ELIZALDE, 2007; YADATA, 2014). De acordo com Yadata (2014), os méis escuros apresentam maiores valores para a condutividade elétrica, indicando a presença de ácidos e compostos ionizáveis em solução aquosa.

3.1.2.6 Açúcar redutor

Os valores médios obtidos para os açúcares redutores (frutose e glicose) foram de 63,68 a 75,59/100 g, nas amostras de *Apis mellifera*, estando de acordo com os recomendados pela legislação (limite mínimo de 60/100 g) (BRASIL, 2000).

As amostras de mandacaiá demonstram valores médios obtidos para os açúcares redutores (frutose e glicose) de 64,09 a 75,28/100 g, estando de acordo com os recomendados pela legislação (limite mínimo de 60/100 g) (BRASIL, 2017). Em um estudo realizado por Alves et al., (2005) apresentou resultados similares ($74,82 \pm 4,28$) de açúcar redutor para os méis de

Melipona mandacaia coletados no município de São Gabriel, região semiárida do Estado da Bahia, ainda assim Ávila et al., (2018) fez um levantamento de amostras de méis de abelhas sem ferrão do mundo e para algumas amostras analisadas os valores de açúcar redutor são relativos aos que foram encontrados nos méis de *Melipona mandacaia*. Méis de meliponas que possuem menor teor de açúcares (70%), sendo mais adocicados (HOLANDA et al., 2012).

3.1.2.7 Teor de hidroxifurfural (HMF)

A avaliação de HMF é um parâmetro para verificação do frescor e ou/superaquecimento do mel. O teor de hidroxifurfural (HMF) dos méis analisado de *A. mellifera* apresentaram valores abaixo do permitido (até 20 mg.kg⁻¹ de mel) de 2,44 a 19,66 mg. kg⁻¹. Mesmo em ambiente com temperaturas altas como na região onde foram coletadas as amostras, os méis apresentaram baixos teores de HMF. Valores relativamente semelhantes foram encontrados para amostras de *Apis mellifera* (DO NASCIMENTO et al., 2018).

Já os valores de HMF dos méis de mandaçaia também demonstram valores bem abaixo do permitido (até 20 mg Kg⁻¹ de mel) de 2,64 a 43,16 mg . Kg⁻¹ (Figura 13, Tabela 13), esses valores foram relativos para algumas amostras nos encontrados. para *Melipona mandacaia* , onde apresentou valor máximo de 16,54 (ALVES et al., 2005) e para analisados para abelhas sem ferrão que foram relatados valores de 0,21 a 58,27 para abelhas do Brasil, Venezuela, Malásia, Tailândia, Nigéria, Cuba, México, Austrália, Argentina e Colômbia (ÁVILA et al., 2018), o que as amostras que tiveram HMF mais alto foi feita a análise após dois anos da coleta.

3.1.2.8 Cinzas

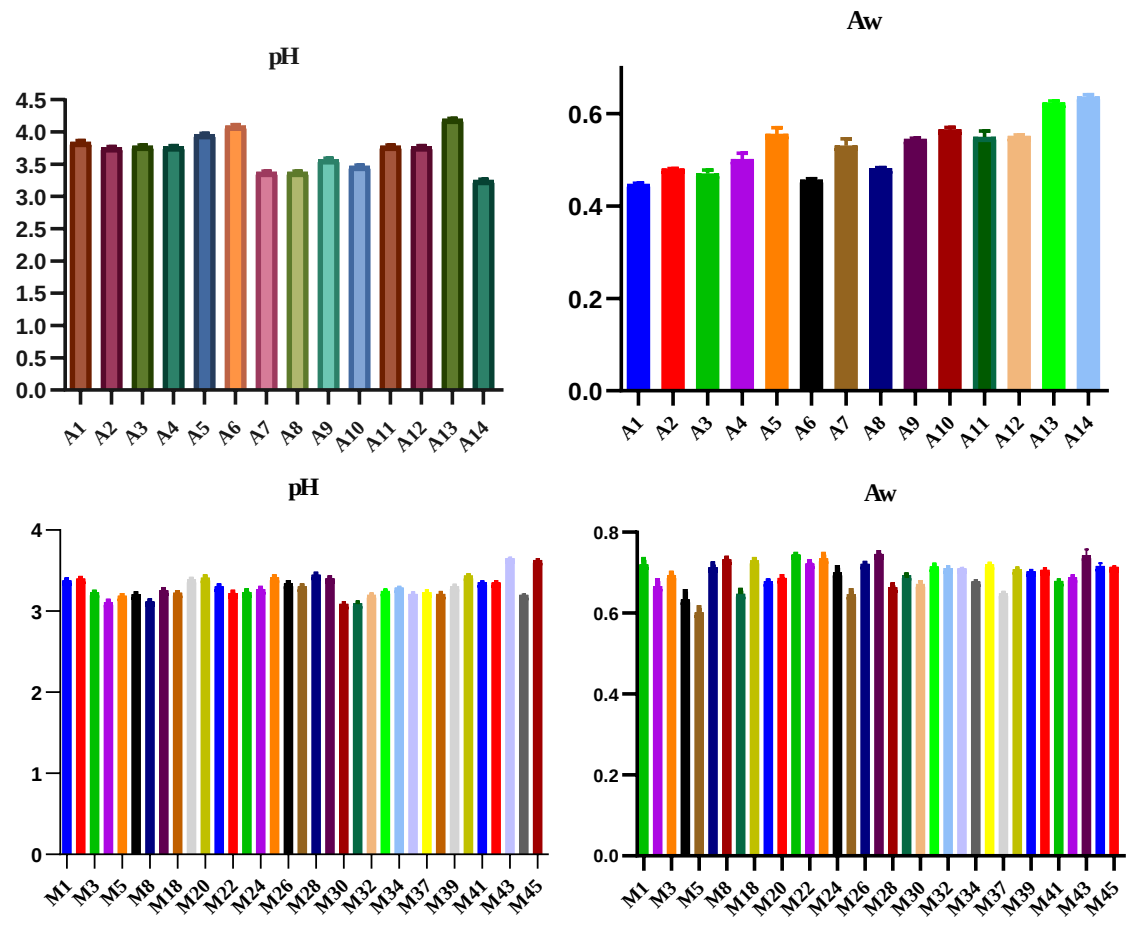
O teor de cinzas nas amostras de *A. mellifera* analisadas variou de 0,07 a 0,22% e está de acordo com a legislação vigente (máximo de 0,6%) (BRASIL, 2000). Valores relativamente semelhantes foram encontrados para amostras de *Apis mellifera* (DO NASCIMENTO et al., 2018). Nas amostras de mandaçaia, esse teor variou de 0,04 a 0,26 % (Figura 13, Tabela 13) e está de acordo com a legislação vigente (máximo de 0,6%) (BRASIL, 2017), valores

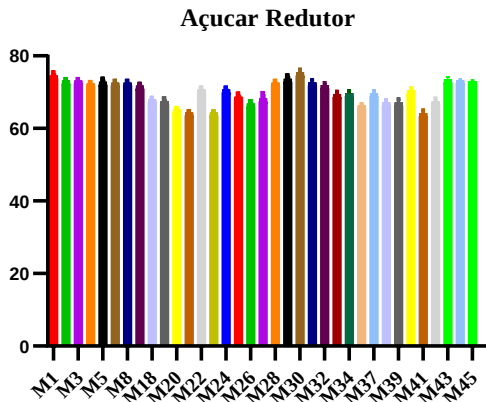
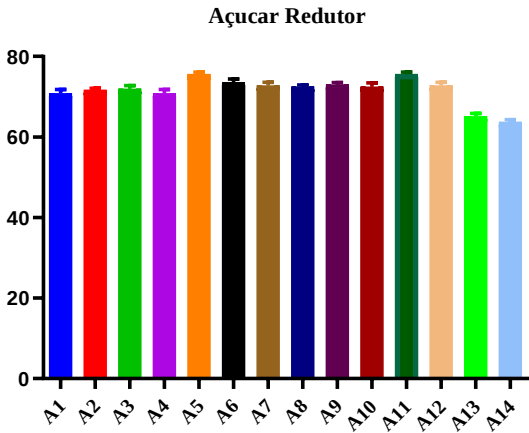
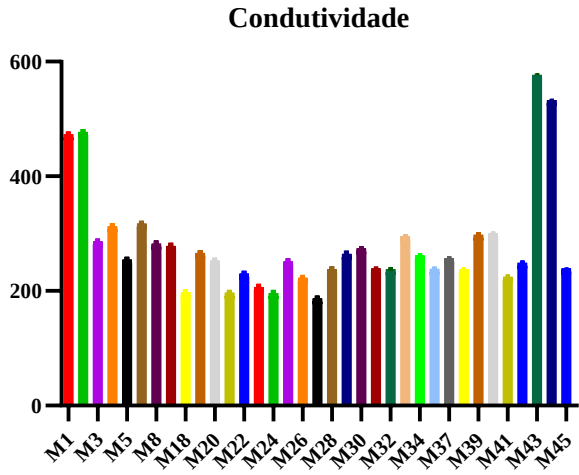
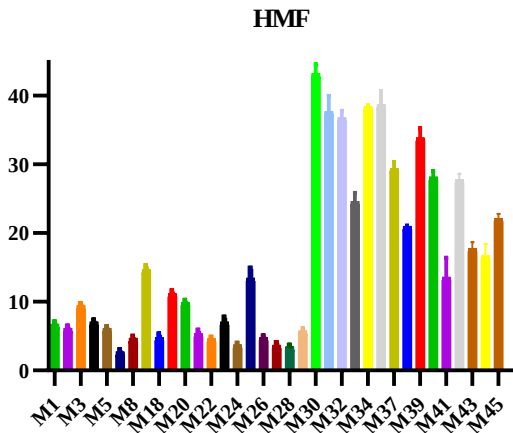
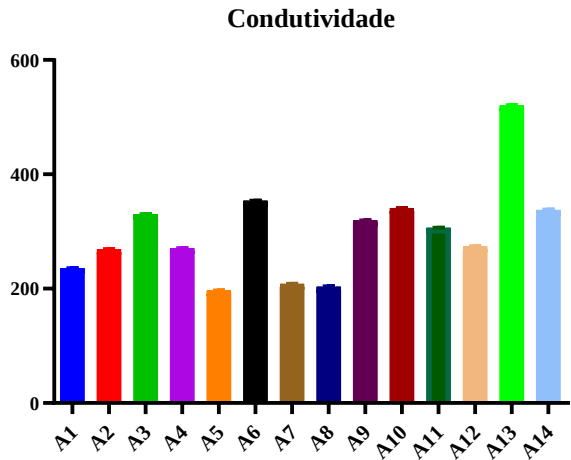
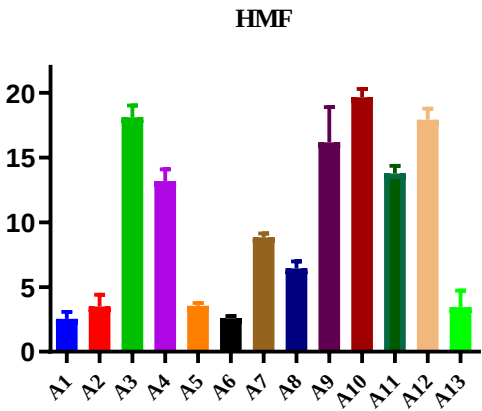
semelhantes foram encontrados para os analisados de algumas abelhas sem ferrão (ÁVILA et al., 2018).

O teor de cinzas representa a riqueza dos minerais no mel, sendo um parâmetro que é frequentemente utilizado para fins de controle de qualidade. O conteúdo mineral no mel é geralmente pequeno e depende da composição do néctar das espécies vegetais, tipo de solo e está associado a diferentes origens botânicas e geográficas (FELSNER et al., 2004).

Com exceção da acidez, e HMF de 12, amostras (M30 a M45 com exceção M41. M43, M44), todos os parâmetros físico-químicos para as trinta e cinco amostras dos méis de abelha *Melipona mandacaia* apresentaram-se normais de acordo com os dados registrados na literatura e nas legislações para os méis das abelhas nativas sem ferrão. Quando comparado os valores dos parâmetros físico químicos das abelhas *Melipona mandacaia* e *Apis mellifera* analisadas neste estudo, com exceção da acidez e HMF de alguma amostras, todas apresentaram-se normais de acordo com os dados registrados na literatura e nas legislações para os méis das abelhas nativas sem ferrão e *Apis mellifera*.

Figura 13– Gráficos das análises físico-químicas do mel de abelha *Apis mellifera* e Mandaçaia (*Melipona mandacaia*)





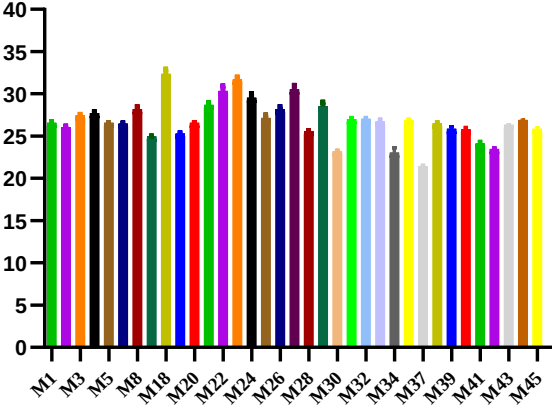
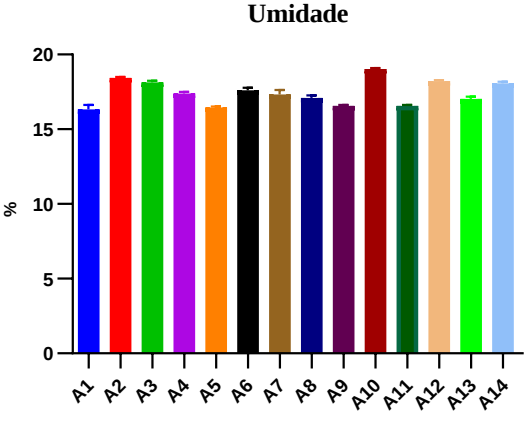
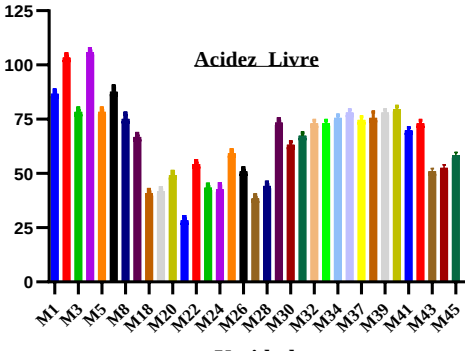
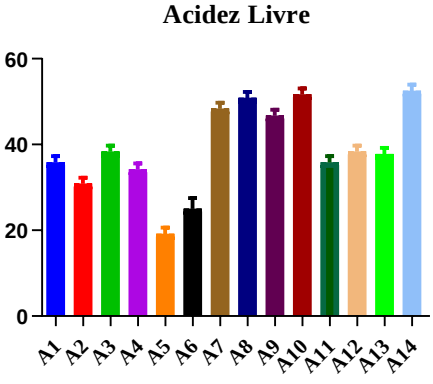
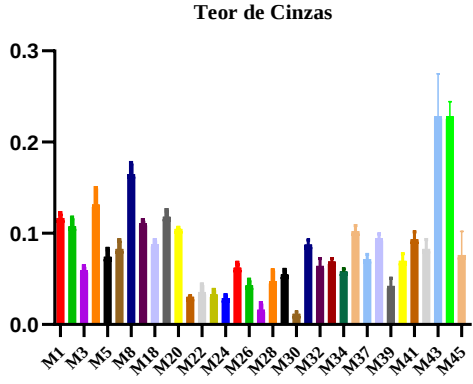
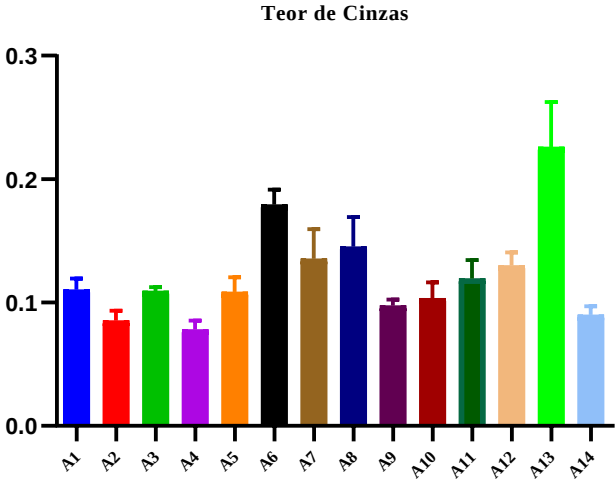


Tabela 12– Análises físico-químicas do mel de abelha *Apis mellifera*

A	pH	Acidez Livre (meq.kg ⁻¹)	Atividade de água(aw)	Umidade (%)	Condutividade (μS.cm ⁻¹)	Açúcar reductor (%)	HMF (mg. Kg ⁻¹)	Teor de cinzas(%)
A1	3,84±0,01	36,42±1,52	0,44±0,00	16,33±0,57	235,66±0,57	70,85±0,91	2,54±0,53	0,11±0,00
A2	3,75±0,00	30,83±1,44	0,48±0,00	18,43±0,05	268,66±0,57	71,64±0,46	3,49±0,90	0,08±0,00
A3	3,77±0,00	38,33±1,44	0,47±0,00	18,13±0,11	330,66±0,57	71,91±0,80	18,11±0,9	0,10±0,00
A4	3,76±0,00	34,16±1,44	0,50±0,01	17,4±0,10	270,66±0,57	70,85±0,91	13,17±0,9	0,07±0,00
A5	3,95±0,00	19,16±1,44	0,55±0,01	16,46±0,05	196,66±0,57	75,59±0,51	3,54±0,22	0,10±0,01
A6	4,09±0,01	25,00±2,5	0,45±0,00	16,6±0,17	353,66±0,57	73,56±0,84	2,59±0,17	0,17±0,01
A7	3,37±0,00	48,33±1,44	0,53±0,01	17,33±0,57	208,66±0,57	72,73±0,82	8,83±0,29	0,13±0,02
A8	3,38±0,01	50,83±1,44	0,48±0,00	17,1±0,17	203,66±0,57	72,45±0,47	6,43±0,53	0,14±0,02
A9	3,57±0,01	46,66±1,44	0,54±0,00	16,56±0,05	318,66±0,57	73,00±0,48	16,16±0,7	0,09±0,00
A10	3,46±0,00	51,66±1,44	0,56±0,00	19,03±0,05	340,66±0,57	72,46±0,95	19,66±0,6	0,10±0,01
A11	3,77±0,00	35,83±1,44	0,54±0,01	16,56±0,05	306,66±0,57	75,59±0,51	13,77±0,5	0,11±0,01
A12	3,76±0,00	38,33±1,44	0,55±0,00	18,23±0,05	273,66±0,57	72,45±0,47	17,91±0,8	0,13±0,01
A13	4,55±0,01	37,76 ± 1,41	0,62 ± 0,00	17,03 ± 0,15	520,00±1,0	65,11± 0,72	3,44±1,27	0,22±0,03
A14	3,61±0,01	52,51 ± 1,41	0,63 ± 0,00	18,06 ± 0,11	337,33±1,15	63,68± 0,60	5,35±0,92	0,08±0,00
Média	3,75±0,30	38,98±10,10	0,52±0,05	17,37±0,86	297,51±83,46	71,56±3,36	10,51±6,67	0,11±0,04

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 13– Análises físico-químicas do mel de abelha Mandaçaia (*Melipona mandacaia*)

A	pH	Acidez Livre (meq/kg)	Atividade de H ₂ O (aw)	Umidade (%)	Condutividade (μ S.cm ⁻¹)	Açúcar reduzidor (%)	HMF (mg/Kg)	Teor de Cinzas (%)
M1	3,38±0,01	86,66±1,44	0,71±0,01	26,53±0,15	472,66±0,57	74,42±0,86	6,68±0,34	0,11±0,00
M2	3,39±0,00	103,33±1,4	0,66±0,01	26,03±0,15	476,66±0,57	73,00±0,48	6,08±0,31	0,10±0,00
M3	3,22±0,00	78,33±1,44	0,69±0,00	27,43±0,11	285,66±0,57	73,00±0,48	9,37±0,31	0,05±0,05
M4	3,11±0,01	105,83±1,4	0,63±0,01	27,70±0,17	312,66±0,57	72,18±0,47	7,03±0,25	0,12±0,02
M5	3,18±0,00	78,33±1,44	0,60±0,01	26,53±0,05	254,66±0,57	72,73±0,82	6,08±0,22	0,07±0,00
M6	3,21±0,01	87,50±2,5	0,71±0,00	26,43±0,11	316,66±0,57	72,45±0,47	2,64±0,34	0,08±0,00
M8	3,11±0,00	75,00±2,5	0,73±0,00	28,16±0,28	282,66±0,57	72,45±0,47	4,64±0,29	0,14±0,03
M9	3,25±0,01	66,66±1,44	0,640±0,00	24,93±0,05	279,66±0,57	71,64±0,46	14,67±0,5	0,11±0,00
M18	3,22±0,00	40,83±1,44	0,72±0,00	32,57±0,15	197,66±0,57	67,84±0,41	4,74±0,52	0,08±0,00
M19	3,38±0,00	41,66±1,44	0,67±0,00	25,26±0,11	265,66±0,57	67,37±0,70	11,12±0,4	0,13±0,04
M20	3,41±0,01	49,16±1,44	0,68±0,00	26,53±0,05	252,66±0,57	65,08±0,38	9,88±0,29	0,10±0,00
M21	3,30±0,00	28,33±1,44	0,74±0,00	28,66±0,28	196,5±0,62	64,21±0,37	5,28±0,52	0,03±0,00
M22	3,22±0,01	54,16±1,44	0,72±0,00	30,56±0,05	229,66±0,57	70,59±0,45	4,54±0,22	0,03±0,00
M23	3,23±0,01	43,33±1,44	0,73±0,00	31,53±0,05	206,66±0,57	64,21±0,37	7,03±0,68	0,03±0,00
M24	3,27±0,01	42,50±2,5	0,69±0,01	29,5±0,11	196,66±0,57	70,59±0,45	3,69±0,22	0,02±0,00
M25	3,41±0,00	59,16±1,44	0,64±0,00	27,13±0,35	251,66±0,50	68,57±0,85	13,42±0,4	0,06±0,00
M26	3,34±0,01	51,50±1,41	0,72±0,00	28,16±0,28	222,66±0,57	66,67±0,69	4,74±0,22	0,04±0,06
M27	3,31±0,01	38,33±1,44	0,74±0,00	30,5±0,12	186,66±0,50	68,10±1,44	3,64±0,37	0,01±0,00
M28	3,44±0,00	44,16±1,44	0,66±0,00	25,56±0,05	237,66±0,57	72,45±0,47	3,39±0,22	0,04±0,01
M29	3,40±0,00	73,33±1,44	0,69±0,00	28,50±0,14	264,5±0,65	73,56±0,85	5,73±0,37	0,05±0,00
M30	3,08±0,01	63,17±1,41	0,67±0,00	23,16±0,15	273,66±1,15	75,28±0,96	33,28±1,21	0,04±0,04
M31	3,09±0,01	67,27±1,41	0,71±0,00	27,00±0,2	238,66±0,57	72,58±0,78	43,16±1,39	0,07±0,04

M32	3,19±0,01	73,00±1,41	0,71±0,00	27,03±0,15	237,66±0,57	71,81±0,76	37,67±2,29	0,06±0,00
M33	3,24±0,01	73,00±81,41	0,70±0,00	26,73±0,25	295,00±1,00	69,35±0,82	36,72±1,06	0,06±0,00
M34	3,28±0,02	75,46±1,41	0,67±0,00	23,00±0,62	261,33±1,15	69,59±0,71	24,55±1,30	0,06±0,01
M35	3,21±0,01	77,92±1,41	0,71±0,00	26,90±0,1	238,00±1,00	66,18±0,64	38,37±0,22	0,10±0,00
M37	3,23±0,02	74,64±1,41	0,64±0,00	21,43±0,11	256,33±0,57	69,59±0,71	29,39±0,95	0,07±0,01
M38	3,21±0,01	75,46±2,83	0,70±0,00	26,46±0,20	237,00±1,00	67,05±0,76	20,95±0,14	0,09±0,01
M39	3,30±0,01	77,92±1,41	0,70±0,00	25,83±0,28	297,66±1,52	67,06±1,02	33,83±1,42	0,04±0,01
M40	3,43±0,01	79,56±1,41	0,70±0,00	25,76±0,25	299,66 0,57	70,31±0,73	28,14±0,91	0,06±0,01
M41	3,35±0,00	69,72±1,41	0,67±0,00	24,10±0,26	224,00±1,00	64,09±0,92	13,52±2,90	0,08±0,01
M42	3,35±0,01	73,00±1,41	0,68±0,00	23,46±0,11	248,33±1,15	67,28±1,01	27,74±0,90	0,08±0,01
M43	3,65±0,01	50,87±1,41	0,74±0,01	26,31±0,09	576,33±1,52	73,37±0,79	17,71±0,96	0,26±0,01
M44	3,20±0,01	52,51±1,41	0,71±0,00	26,9±0,10	532,66±1,15	73,10±0,45	16,66±1,72	0,22±0,01
M45	3,62±0,01	58,25±1,41	0,71±0,00	25,83±0,20	238,33±0,57	72,84±0,45	22,10±0,70	0,08±0,00
Média	3,29±0,13	65,42±18,22	0,69±0,03	26,80±2,35	281,27±92,31	70,01±3,18	15,94±12,48	0,07±0,05

Fonte: MORENO, 2019

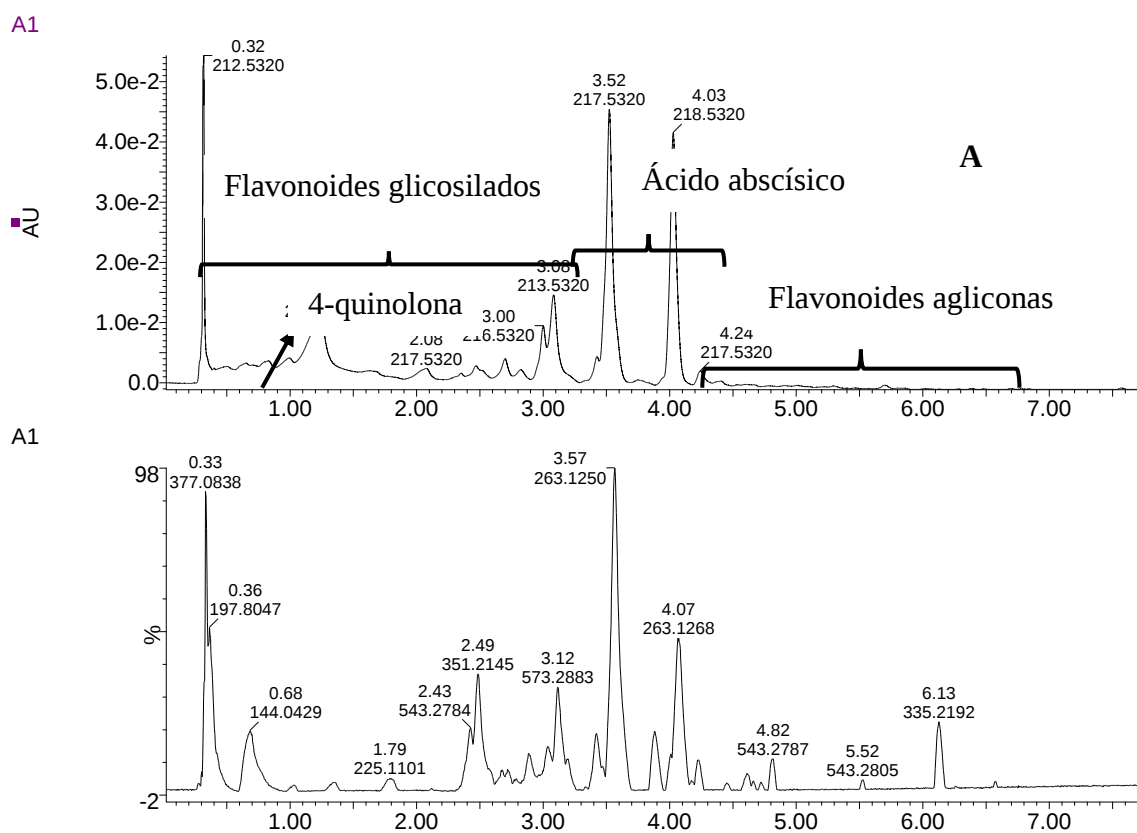
3.1.3 Análises por UPLC-PDA-qTOF-MS/MS da fração SPE metanólica dos méis

Alguns compostos conhecidos presentes no mel de abelha *Melipona mandacaia* e *Apis mellifera* foram identificados por comparação com padrões autênticos de acordo com os tempos de retenção, dados de ultravioleta (UV) e espectros de massas como no caso de **(2)** 4-quinolona, **(9)** ácido elágico, **(23)** ácido (2*E*,4*E*)–abscísico, **(30)** ácido (2*Z*,4*E*)–abscísico, **(31)** luteolina, **(34)** quercetina, **(40)** naringerina, **(41)** apigenina e **(67)** 7-metoxi-naringenina, onde os espectros de massa foi mostrado no capítulo 2 para **(7)**. Os compostos não conhecidos foram caracterizados pela análise dos íons produtos (espectros MS^E) e pelos espectros de UV comparados com registros na literatura. Um representativo por localidade dos cromatogramas obtidos por UPLC-DAD e íon pico base (UPLC-qTOF/MS^E) em modo negativo da fração SPE metanólica dos méis de analisados estão nas Figuras 14 até 18, respectivamente. Os compostos encontrados por amostras e localidades estão nas Tabelas 14 até 19.

Dos 71 picos analisados nos cromatogramas das amostras de méis, cinquenta e três deles foram identificados (Tabela 20), destes, os compostos **9**, **31**, **34**, **40**, **41** e **67** foram comparados com padrões autênticos. Com exceção dos compostos **3**, **4**, **14**, **17**, **18**, **19**, **21**, **22**, **24**, **25**, **27**, **32**, **33**, **36**, **39**, e **45** (não foi possível a identificação somente com os espectros de massas) todos são derivados fenólicos. Apenas sete compostos não são flavonoides agliconas: **2** (4-quinolona), **5** e **8** (ácido dihidroxi cumarínico), **9** (ácido elágico), **10** (ácido dihidro abscísico), **23** e **30** (ácido abscísico) e os compostos **1**, **6**, **7**, **11**, **13**, **28** (flavonoides -glicosilados). Dos 40 flavonoides agliconas identificados 26 são flavonas/flavonois e 14 são flavanonas/flavanonois. O composto **2** apresentou o íon [M-H]⁻ em *m/z* 144,0455 (4-quinolona) e os compostos **23** e **30** *m/z* 263,1289 (23 ácido (2*E*,4*E*)–abscísico e 30: ácido (2*Z*,4*E*)–abscísico), comparados com Silva et al., (2014). Os íons produtos em *m/z* 219,1366[M-H-CO₂]⁻; é referente a perda de CO₂ e em *m/z* 204,1132 [M-H-CH₃]⁻, referente a perda de CH₃. Espectro de massa é mostrado na Figura 19. O pico **9** mostrou o íon [M-H]⁻ em *m/z* 300,9997 e foi identificado como ácido elágico. Os íons produtos em *m/z* 283,9943 [M-H-H₂O]⁻, *m/z* 257,0072 [M-H-CO₂]⁻, *m/z* 229,9945 [M-H-CO₂-

$\text{CO}]^-$, m/z 201,0184 $[\text{M-H-CO}_2\text{-2CO}]^-$, e m/z 185,0241 $[\text{M-H-2CO}_2\text{-CO}]^-$ corroboram com a identificação (WYREPKOWSKI et al., 2014).

Figura 14– Cromatograma do íon pico base obtido por MS^E (UPLC-qTOF/ MS^E) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra A1 Remanso) UPLC-DAD (254 nm) (**A** Apis, **B** e **C** *Melipona mandacai*, Remanso)

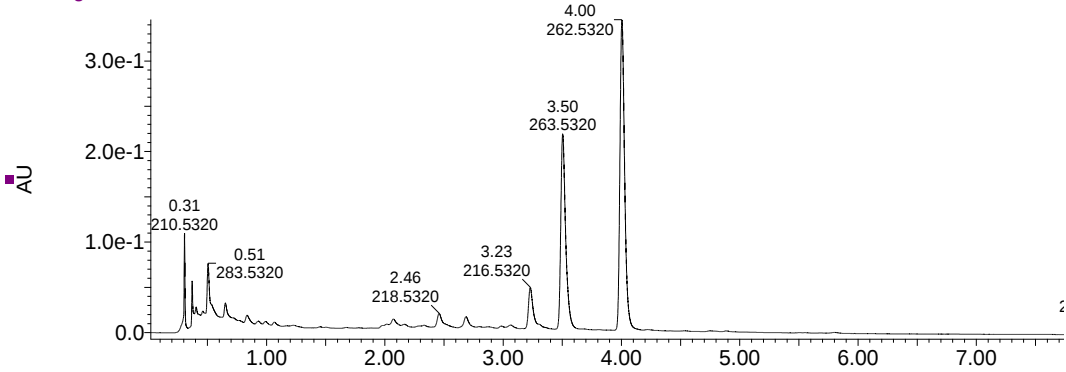


Fonte: MORENO, 2019

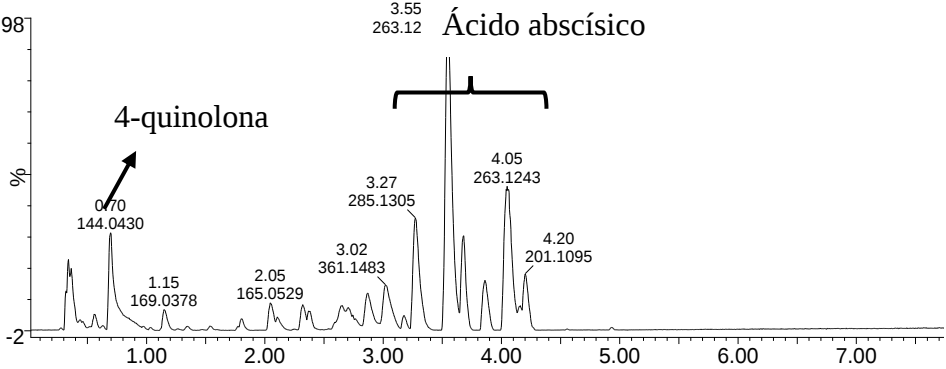
O **1** mostrou o íon $[\text{M-H}]^-$ em m/z 549,1614 e foi proposto tentativamente como flavonona pentosahexosídeo. Os íons produtos em m/z 387,1102 $[\text{M-H-hexose}]^-$; m/z 295,9734 $[\text{M-H-hexose-pentose}]^-$. Os compostos **6**, **7** e **11** tem tentativa de identificação como flavonoides glicosilados e fragmentações são mostradas na Tabela 20. O composto **13** m/z 623,1618. Os íons produtos em m/z 593,3466 $[\text{M-H-CH}_3\text{O}]^-$; 463,1875 $[\text{M-H-hexose}]^-$; e m/z 314,0389 é referente a perda de as hexoses. Espectro de massa é mostrado na Figura 20

Mel Rog15a

B

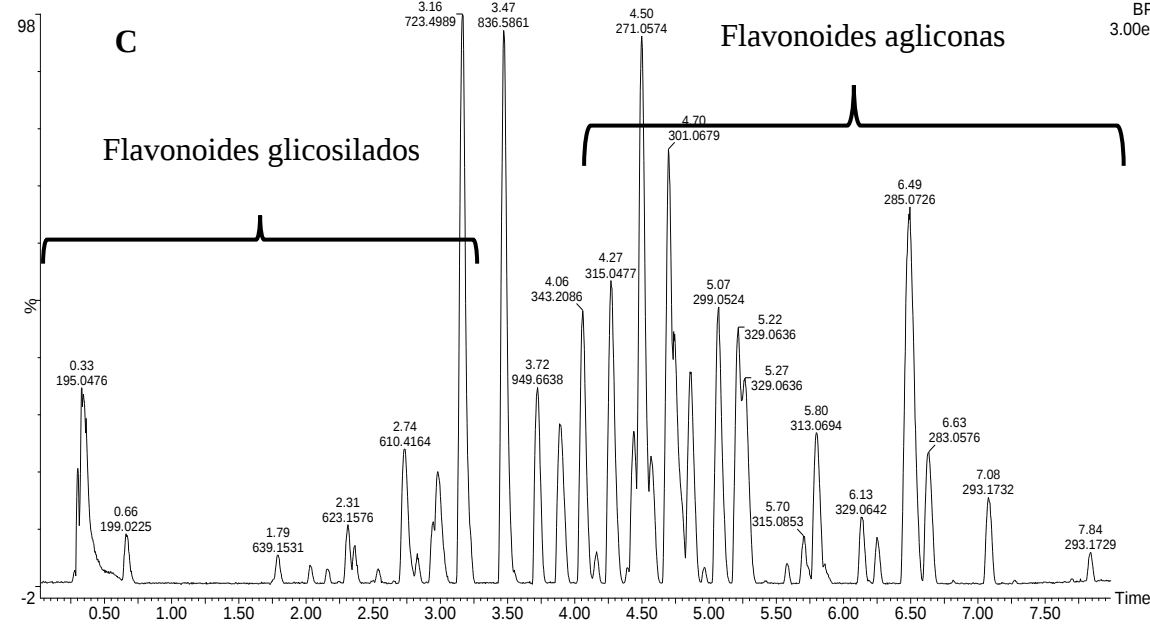


Mel Rog15a



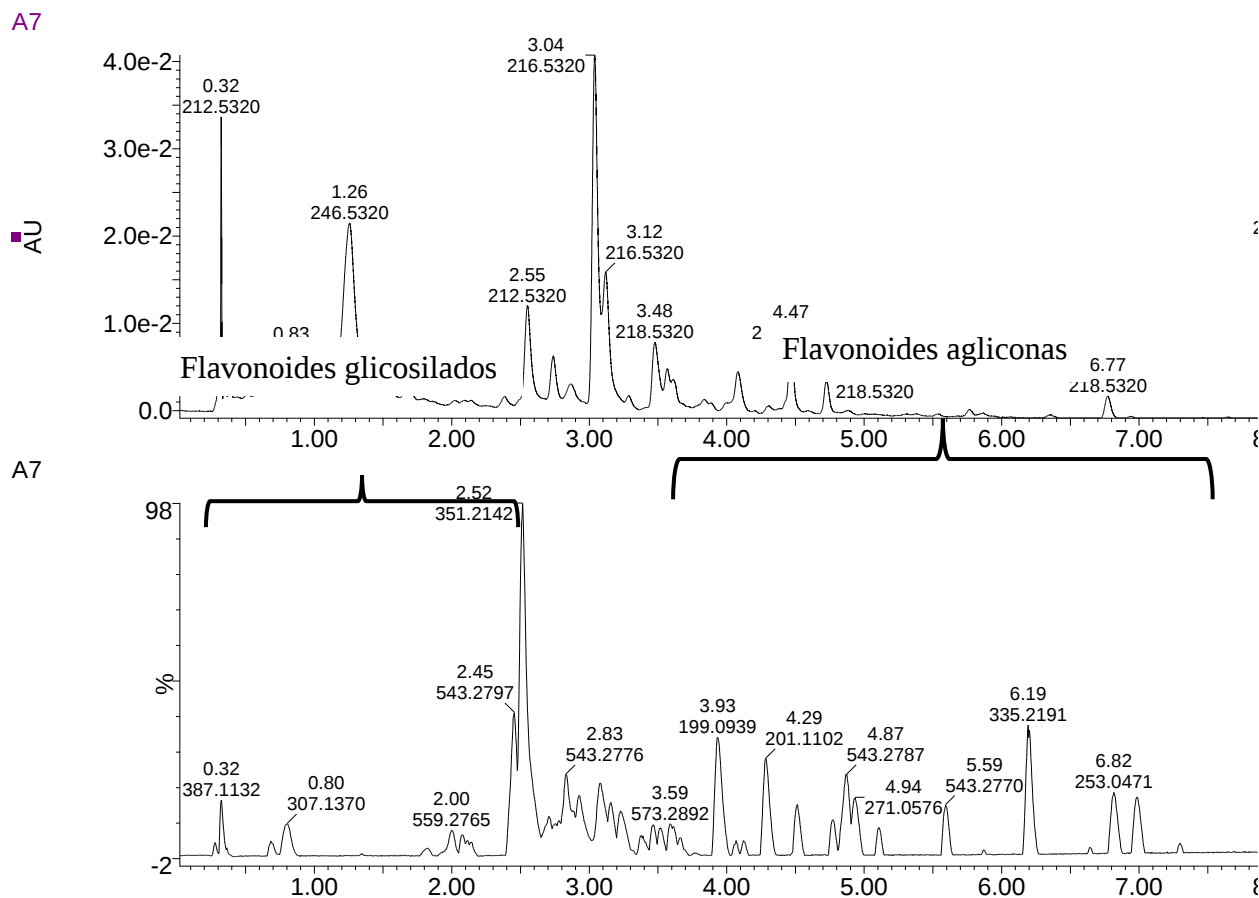
MMJ04a

C



Fonte: MORENO, 2019

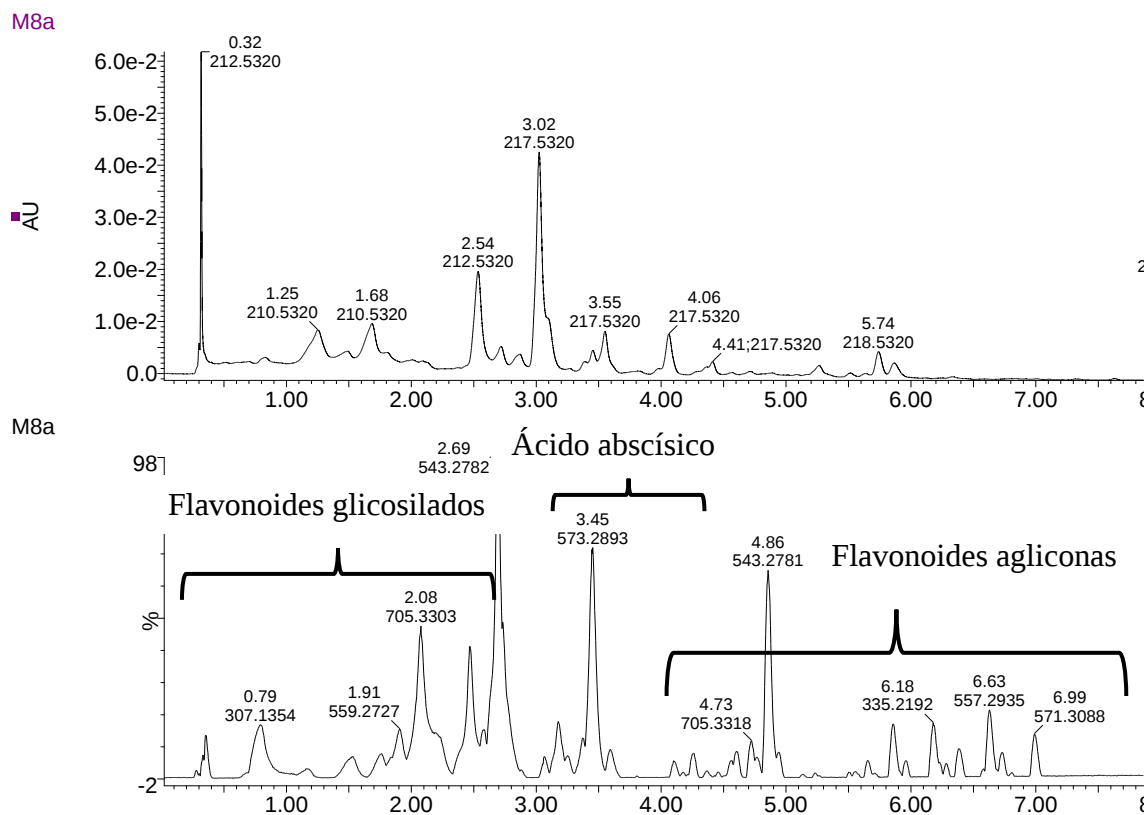
Figura 15– Cromatograma do íon pico base obtido por MS^E (UPLC-qTOF/MS^E) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra A7 Petrolina) UPLC-DAD (254 nm)



Fonte: MORENO, 2019

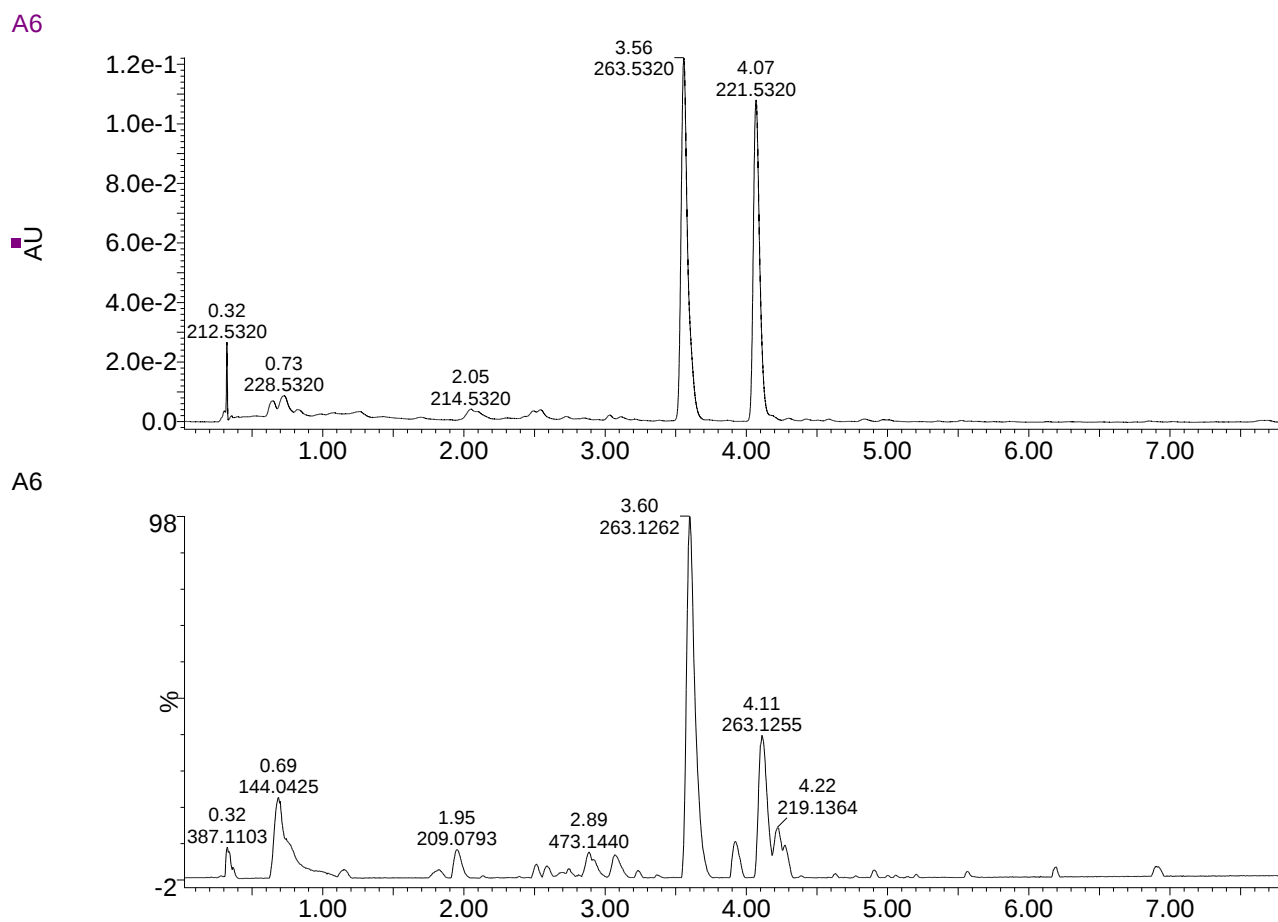
Composto 28 (isoramnetina-glicosídeo) com m/z 477,1039 $[M-H]^-$ mostrou a perda de 162 Da e posterior 28 Da, sugerindo a presença de uma hexose na estrutura. O fragmento em m/z 287.0538 $[M-H-CO-hexose]^-$ corresponde a molécula da isoramnetina (quercetina metilada) desprotonada.

Figura 16– Cromatograma do íon pico base obtido por MS^E (UPLC-qTOF/MS^E) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra M8 Sobradinho) UPLC-DAD (254 nm)



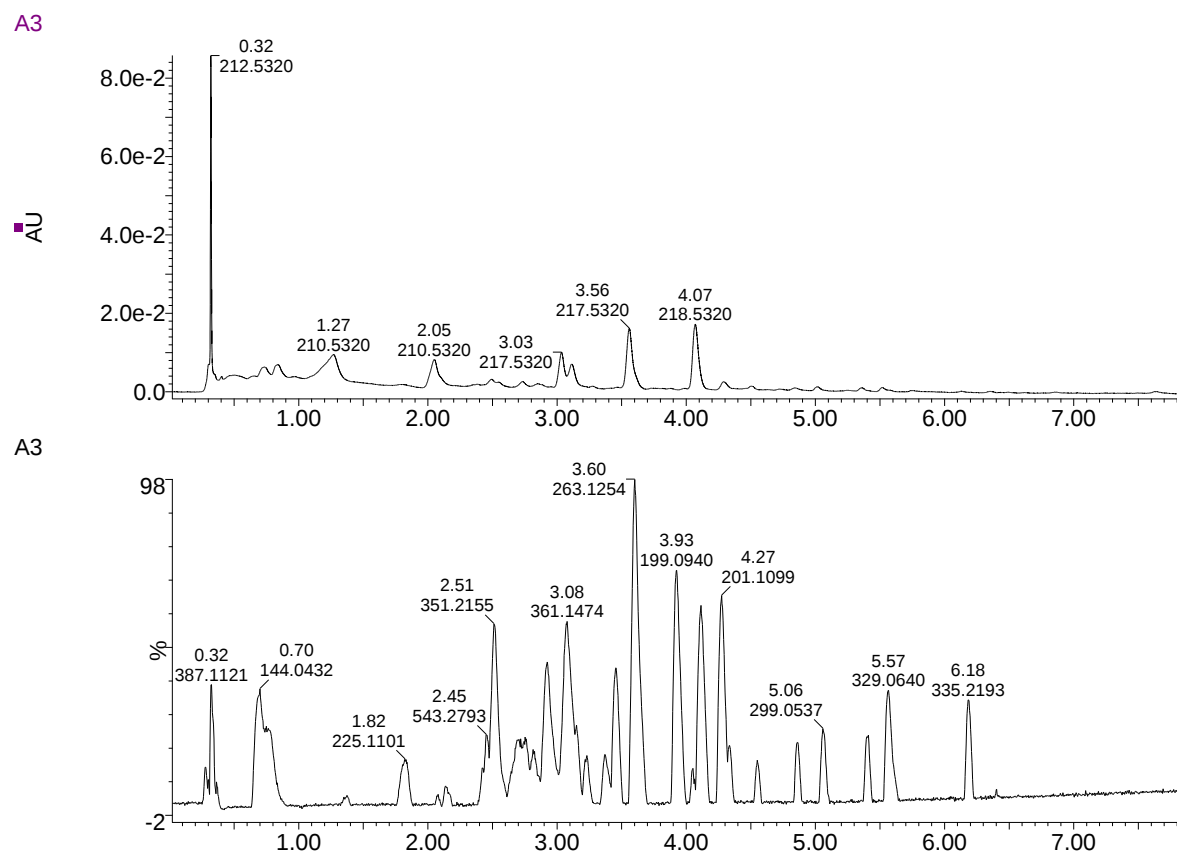
Fonte: MORENO, 2019

Figura 17– Cromatograma do íon pico base obtido por MS^E (UPLC-qTOF/MS^E) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra A6 Sento Sé) UPLC-DAD (254 nm)



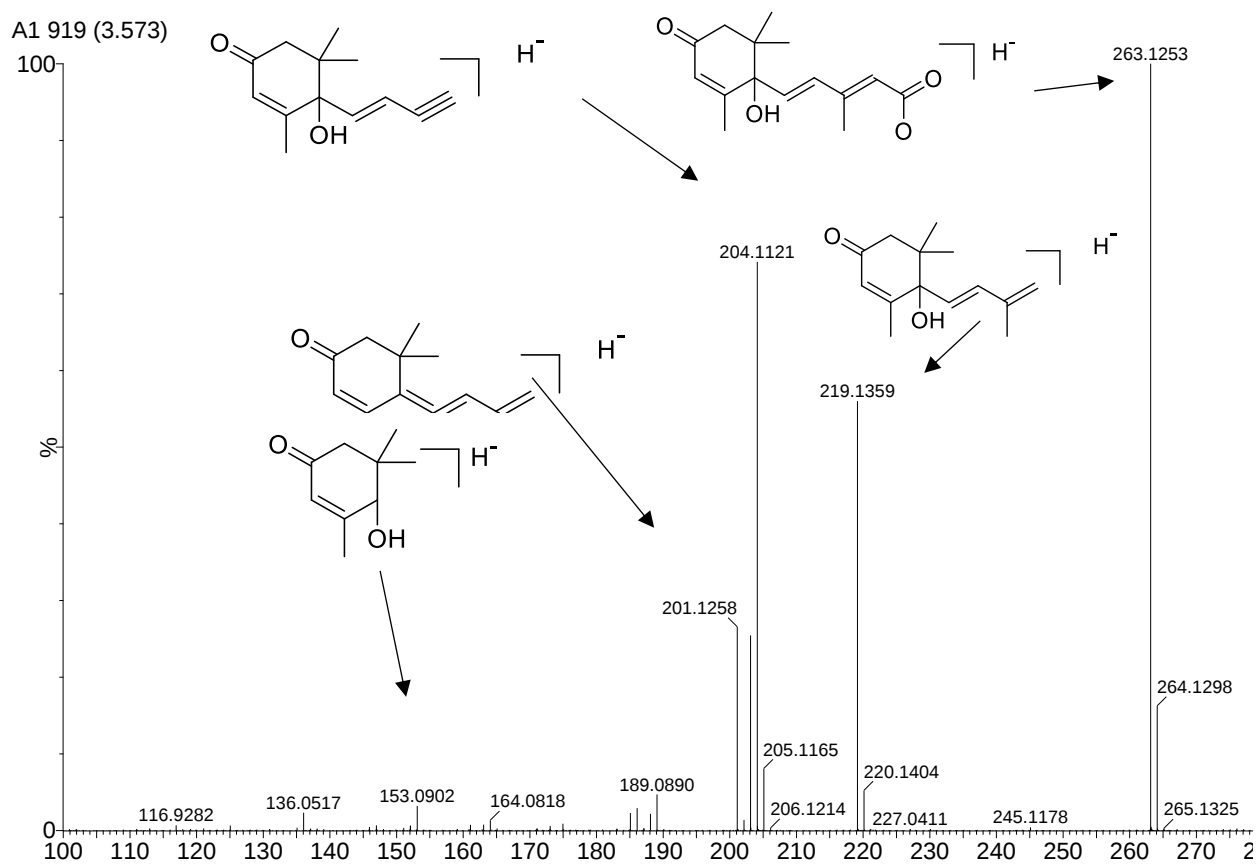
Fonte: MORENO, 2019

Figura 18– Cromatograma do íon pico base obtido por MSE (UPLC-qTOF/MSE) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra A6 Pilão Arcado) UPLC-DAD (254 nm)



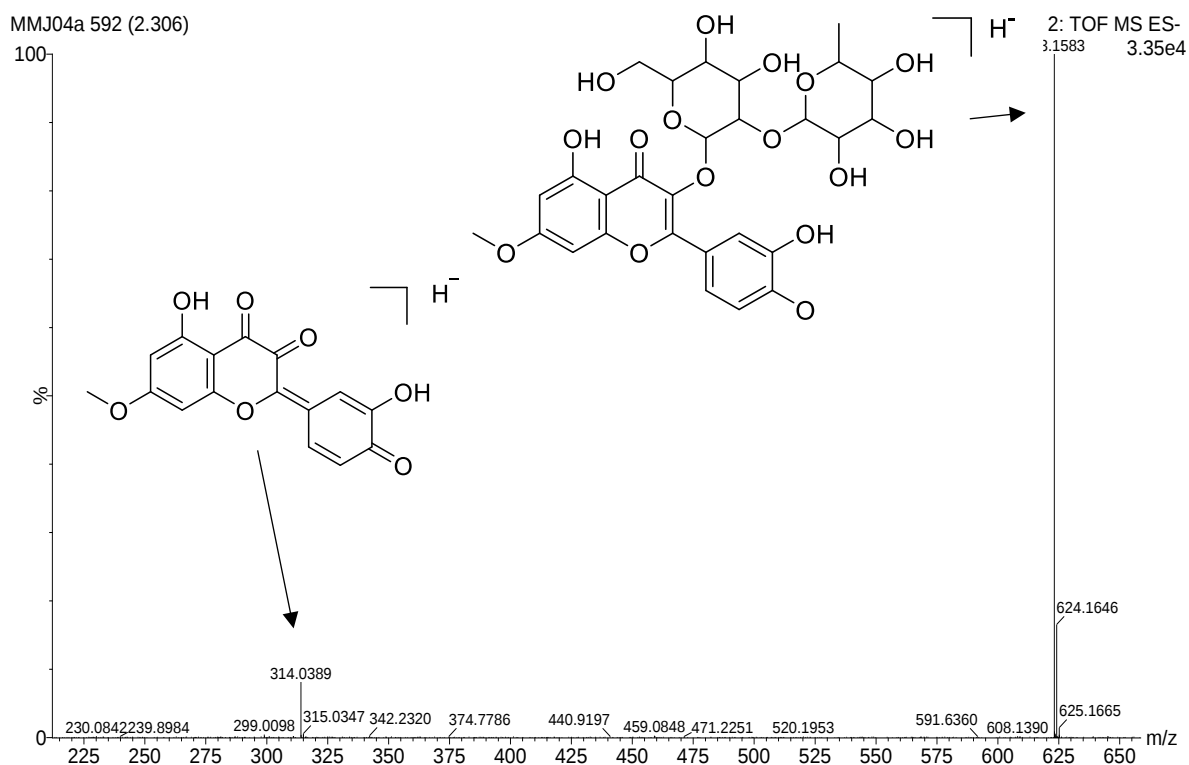
Fonte: MORENO, 2019

Figura 19– Espectro de íons produtos de ácido abscísico



Fonte: MORENO, 2019

Figura 20– Espectro de íons produtos de isoramnetina-dihexosideo



Fonte: MORENO, 2019

Os flavonoides agliconas foram separados em dois grupos baseados nos valores das absorções no UV (em torno de 290 nm para flavanona/flavanonol e 345-360 nm para flavona/flavonol) e nos íons produtos obtidos nos espectros de massas, sendo a grande maioria isômeros como: **31** (285 Da); **34, 42, 46 54** (301 Da); **27** (287 Da); **35, 38, 56, 59, 60** (315 Da); **64** (343 Da); **20, 49, 50, 51, 61** (329 Da); **55, 57, 58, 70** (313 Da); **43, 53, 66, 69** (283 Da); e **44, 47, 48** (299 Da). Os picos mais comuns derivados da perda neutra de pequenas moléculas ou íons como por exemplo CO (28 Da), H₂O (18 Da) ou CH₃ (15 Da) estão na Tabela 20. Geralmente a presença dos íons produtos resultantes da perda destas moléculas com baixa intensidade e a presença acentuada do pico do íon desprotonado é observado no espectro MS^E obtido com a mais baixa energia de colisão.

Tabela 14– Identificação dos compostos das amostras de mel de *A. mellifera* (A) e *M. mandacaiá* (M) coletas no município Remanso-BA

	Rt	λ (nm)	[M-H] ⁺ (m/z)	Calculado	Tentativa de identificação	A1	A2	A9	A10	A11	A12	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25
1	0,32	264	549,1630	549,1614	Flavonona pentose-hexose	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2	0,70	328	144,0440	144,0455	4-quinolona	X	X	X	X	X	X	X		X											
3	1,80	340	609,1463	609,1461	Flavonol dihexosídeo	X	X	X	X	X	X							X		X	X		X	X	X
4	1,90	340	639,1567	639,1567	Trihidroxi-metoxi-flavonol dihexosídeo	X			X	X								X	X	X	X	X	X	X	X
5	2,00	300	165,0542	165,0557	Dihidro ácido coumarínico	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
6	2,45	260	333,0616	333,0616	Tetrahidroxi-metoxi-flavonol	X	X	X	X	X	X														
7	2,50	340	623,1618	623,1618	Trihidroxi-metoxi-flavona dihexosídeo			X	X								X	X	X	X	X	X	X	X	X
8	2,75	260	333,0601	333,0616	Tetrahidroxi-metoxi-flavonol												X								
9	2,95	340	477,1039	477,1039	Trihidroxi-metoxi-flavonol hexose												X						X	X	X
10	3,09		361,1504		NI																				
11	3,14		573,2885		NI																				
12	3,24		573,2885		NI																				
13	3,45		723,5014		NI																				
14	3,54	280	263,1250	263,1289	Ácido abscísico	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				X	X	X	X	X	X
25	3,77		836,5810		NI																				
16	3,90		199,0976	199,0976		X	X	X	X	X	X											X			
17	4,12	280	263,1250	263,1289	Ácido abscísico	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
18	4,14	360	285,0400	285,0405	Tetrahidroxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
19	4,54	360	315,0505	315,0510	Tetrahidroxi-metoxi-flavona			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
20	4,75	280	271,0603	271,0612	Naringerina*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
21	4,85	340	269,0461	269,0455	Apigenina*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
22	5,05	340	299,0549	299,0561	Trihidroxi-metoxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
23	5,42	340	299,0549	299,0561	Trihidroxi-metoxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
24	5,52	340	329,0661	329,0667	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
25	5,95	280	301,0702	301,0716	Trihidroxi-metoxi-flavanona	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
26	6,12	360	313,0705	313,0718	Dihidroxi-dimetoxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
27	6,56	350	329,0635	329,0666	Trihidroxi-dimetoxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
28	6,89	280	285,0750	285,0768	7-metoxi-naringenina*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
29	7,05	360	283,0609	283,0612	Dihidroxi-metoxi-flavona							X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
30	7,55	340	313,0701	313,0718	Dihidroxi-dimetoxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
31	7,62	256	355,1187	355,1187	Trihidroxi-dimetil-flavonona							X	X												

*Comparado com padrão autêntico

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 15– Identificação dos compostos das amostras de mel de *M. mandacaiá* (M) coletas no município Remanso-BA

	Rt	λ (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	Calculado	Tentativa de identificação	M 26	M 27	M 28	M 29	M 30	M 31	M 32	M 33	M 34	M 35	M 37	M 38	M 39	M 40	M 41	M 42	M 43	M 44	M 45
1	0,32	264	549,1630	549,1614	Flavonona-pentose-hexose	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2	0,7	328	144,0443	144,0455	4-quinolona					X	X				X	X	X	X		X	X		X	
3	1,8	340	609,1463	609,1461	Flavonol-dihexose	X	X	X	X															
	1,9	340	639,1567	639,1567	Trihidroxi-metoxi-flavonol dihexose																			
4	2,00	300	165,0542	165,0557	Dihidro-ácido coumarínico	X	X	X	X	X		X	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X
5	2,14	360	300,9977	300,9990	Ácido elágico*								X			X								
6	2,5	340	623,1618	623,1618	Trihidroxi-metoxi-flavona dihexoxideo	X	X	X	X	X							X							
7	2,75		735,3468		NI																			
8	2,87	260	333,0601	333,0616	Tetrahidroxi-metoxi-flavonol	X	X	X	X															
9	2,95	340	477,1039	477,1039	Trihidroxi-metoxi-flavonol hexose	X	X	X	X	X							X							
10	3,09		361,1504		NI																			
11	3,14		573,2885		NI																			
12	3,24		573,2885		NI																			
13	3,34		723,5014		NI																			
14	3,4		735,3468		NI																			
15	3,45		735,3468		NI																			
16	3,54	280	263,125	263,1289	Ácido abscísico	X	X	X	X		X		X			X		X	X	X	X	X	X	
17	3,87	280	287,054	287,0561	Tetrahidroxi-flavonol	X	X	X	X												X			
18	3,9		199,0976	199,0976	NI	X	X	X															X	
19	4,00		949,664		NI																			
20	4,12	280	263,125	263,1289	Ácido abscísico	X	X	X	X		X		X					X	X	X	X	X	X	
21	4,14	360	285,0400	285,0405	Luteolina*	X	X	X	X			X			X	X			X	X	X			X
22	4,26	360	301,0345	301,0354	Quercetina*						X			X				X		X	X			X
23	4,33	360	315,0516	315,0510	Tetrahidroxi-metoxi-flavona						X		X		X		X			X	X			X
24	4,54	360	315,0505	315,0510	Tetrahidroxi-metoxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X			X	X			X
25	4,6	280	373,1256	373,1293	Pentametoxi-flavanona	X	X	X	X			X					X	X	X		X			

26	4,75	280	271,0610	271,0612	Naringerina*	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
27	4,85	340	269,0461	269,0455	Apigenina*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
28	4,96	280	301,0719	301,0716	Trihidroxi-metoxi-flavanona	X	X	X	X		X				X	X	X	X	X	X		X
29	5,05	340	299,0549	299,0561	Trihidroxi-metoxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X		
30	5,18	280	301,0714	301,0716	Trihidroxi-metoxi-flavanona	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X	X	X	X		
31	5,38	340	299,0559	299,0561	Trihidroxi-metoxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X	X		X	X	
32	5,52	340	329,0661	329,0667	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona	X	X	X	X		X	X	X		X	X	X		X	X		
33	5,61	340	329,0661	329,0667	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X
34	5,95	280	301,0714	301,0716	Trihidroxi-metoxi-flavanona	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	
35	6,08	280	315,0869	315,0874	Dihidroxi-dimetoxi-flavanona	X	X	X	X				X		X	X	X			X		
36	6,18	360	313,0711	313,0718	Dihidroxi-dimetoxi-flavona	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	
32	6,4	360	315,0512	315,051	Tetrahidroxi-metoxi-flavona	X	X	X	X	X	X				X	X	X	X		X	X	
33	6,66	360	343,0820	343,0823	Dihidroxi-trimetoxiflavona	X	X	X	X				X				X			X	X	
34	6,9	280	285,0766	285,0768	7-metoxi-naringenina*	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X		X
35	7,05	360	283,0609	283,0612	Dihidroxi-metoxi-flavona	X	X	X	X		X		X	X	X	X	X		X	X	X	X

*Comparado com padrão autêntico

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 16– Identificação dos compostos das amostras de mel de *A. mellifera* (A) coletadas no município Petrolina-PE

Comp.	Rt	λ (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	Calculado	Tentativa de identificação	A7	A8	A13	A14
1	0,32	259	549,1630	549,1614	Flavonona-pentose-hexose	X	X		
2	0,7	328	144,0443	144,0455	4-quinolona	X	X	X	X
3	2	300	165,0542	165,0557	Dihidro-ácido-coumarínico	X	X	X	X
4	2,16	300	279,1214	279,1238	Ácido-dihidroxi-abscísico	X	X	X	X
5	2,45		543,2803		NI				
6	2,5		351,2177	351,2177	NI				
7	2,73		301,1270	301,1293	NI				
8	2,87		160,0398	160,0404	Hidroxi-2-quinolona			X	
9	2,95		301,1270	301,1293	NI	X	X	X	
10	3,09		301,1270	301,1293	NI	X	X	X	
11	3,24		480,1438		NI				
12	3,45		351,2167	351,2177	NI	X	X		
13	3,54	280	263,1260	263,1289	Ácido abscísico	X	X	X	X
14	3,68		295,1424		NI				
15	3,9		199,0976	199,0976	NI	X	X		
16	4,12	280	263,1260	263,1289	Ácido abscísico	X	X	X	X
17	4,26	360	301,0345	301,0354	Quercetina*				X
18	4,28	218	201,1113	201,1132	NI	X	X	X	
18	4,33	360	315,0516	315,051	Tetrahidroxi-metoxi-flavona				X
19	4,5		321,1620	321,1609	NI			X	
20	4,7		323,1755	323,1765	NI	X	X	X	
21	4,75	280	271,0610	271,0612	Naringerina*	X	X	X	X
22	4,85	280	301,0719	301,0716	Trihidroxi-metoxi-flavanona				X
23	4,9	340	269,0461	269,0455	Apigenina*				X
24	5,02	360	315,0505	315,0510	Tetrahidroxi-metoxi-flavona			X	X
25	5,1		323,1755	323,1765	NI				
26	5,23	340	299,0549	299,0561	Trihidroxi-metoxi-flavona			X	X
27	5,38	340	329,0661	329,0667	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona			X	X
28	5,74	280	301,0714	301,0716	Trihidroxi-metoxi-flavanona			X	X
29	5,8	360	283,0612	283,0612	Dihidroxi-metoxi-flavona	X	X	X	
30	5,95	340	329,0661	329,0667	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona			X	
31	6	360	313,0711	313,0718	Dihidroxi-dimetoxi-flavona			X	
32	6,18	360	315,0505	315,051	Tetrahidroxi-metoxi-flavona			X	X
33	6,68	280	285,0766	285,0768	7-metoxi-naringenina*				X
34	6,84	350	253,0502	253,0506	Dihidroxi-flavona	X	X		
35	6,9	360	283,0609	283,0612	Dihidroxi-metoxi-flavona			X	X
36	7,00	260	255,0663	255,0663	Dihidroxi-flavonona	X	X		

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 17– Identificacao dos compostos da amostra de mel de *M. mandacai* (M) coletas no município Sobradinho-BA

Comp	Rt	λ (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	Calculado	Tentativa de identificação	M8
1	0,32	259	549,1630	549,1614	Flavonona-pentose-hexose	X
2	0,70	328	144,0443	144,0455	4-quinolona	X
3	1,17	270	229,0945	229,0983	NI	X
4	1,52	300	345,1166		NI	X
5	1,96	300	513,2648		NI	X
6	2,0	300	165,0542	165,0557	Dihidro-ácido-coumarínico	X
7	2,46		543,2803		NI	X
8	2,70		735,3402		NI	X
9	3,18		573,2818		NI	X
10	3,45		573,2818		NI	X
11	3,54	280	263,1260	263,1289	Ácido abscísico	X
12	4,12	280	263,1260	263,1289	Ácido abscísico	X
13	4,60		373,1279	373,1293	NI	X
14	4,75	280	271,0610	271,0612	Naringerina*	X
15	4,85	340	269,0461	269,0455	Apigenina*	X
16	5,80	360	283,0612	283,0612	Dihidroxi-metoxi-flavona	X
17	6,00	360	313,0711	313,0718	Dihidroxi-dimetoxi-flavona	X
18	6,18	360	315,0505	315,0510	Tetrahidroxi-metoxi-flavona	X
19	6,38		719,3436		NI	X
20	6,68	280	285,0766	285,0768	7-metoxi-naringenina*	X
21	6,75		733,3880		NI	X
22	7,00	260	255,0663	255,0663	Dihidroxi-flavonona	X

*Comparado com padrão autentico

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 18– Identificação dos compostos das amostras de mel de *A. mellifera* (A) coletas no município Sento Sé-BA

Comp,	Rt	λ (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	Calculado	Tentativa de identificação	A5	A6
1	0,32	263	549,1638	549,1614	Flavonona-pentose-hexose		X
2	0,70	328	144,0425	144,0455	4-quinolona	X	X
3	1,17	315	169,0381	169,0367	NI		X
5	1,82		225,1122	225,1132	NI		X
6	1,96		209,0800		NI		X
7	2,39	360	785,2142	785,2146	Trihidroxi-metoxi-flavona-trihexose		X
8	2,50	290	351,2167		NI		X
9	2,87	280	473,1440	473,1453			X
10	3,09	280	361,1497		NI		X
11	3,54	263	263,1266	263,1289	Ácido abscísico	X	X
12	3,90	217	199,0957	199,0976	NI		X
13	4,12	261	263,1255	263,1289	Ácido abscísico	X	X
14	4,22	278	331,1131	331,1187	Dihidroxi-trimetoxi-flavona		X
15	4,90	260	263,1269	263,1289	Ácido abscísico		X
16	5,61	340	329,0648	329,0666	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona		X
17	6,20	360	313,0700	313,0718	Dihidroxi-dimetoxi-flavona		X
18	6,90	280	285,0747	285,0768	7-metoxi-naringenina*		X

*Comparado com padrão autêntico

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 19– Identificação dos compostos das amostras de mel de *A. mellifera* e *M. mandacaiá* (M) coletas no município Pilão Arcado – BA

Comp,	Rt	λ (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	Calculado	Tentativa de identificação	A3	A4	M9
1	0,32	271	549,1638	549,1614	Flavonona-pentose-hexose	X	X	X
2	0,70	328	144,0440	144,0455	4-quinolona	X	X	X
3	1,37		387,1641	387,1661	NI	X	X	
4	1,80		225,1122	225,1132	NI	X	X	
6	2,00	300	165,0542	165,0557	Dihidro-ácido coumarínico	X	X	
7	2,14		705,3339		NI	X	X	X
8	2,16	300	279,1214	279,1238	Ácido-dihidroxi-abscísico	X	X	X
9	2,39	360	785,2142	785,2146	Trihidroxi-metoxi-flavona-hexose	X	X	
10	2,50	340	623,1618	623,1618	Trihidroxi-metoxi-flavona-dihexose	X	X	X
11	2,69		543,2792		NI	X	X	
13	2,75		543,2792		NI	X	X	X
14	2,92		361,1465		NI	X	X	
15	2,95		395,1906		NI			X
16	3,09		361,1497		NI	X	X	
17	3,14		573,2891		NI	X	X	
18	3,24		480,1438		NI	X	X	
19	3,28	256	329,1021	329,1031	Hidroxi-trimetoxi-flavanona			X
20	3,37		363,1625		NI	X	X	
21	3,46		573,2881		NI	X	X	X
22	3,54	280	263,1266	263,1289	Ácido abscísico	X	X	X
23	3,90		199,0976	199,0976	NI	X	X	
24	3,95	356	477,1028	477,1039	Trihidroxi-metoxi-flavanol-hexose			X
25	4,12	280	263,1255	263,1289	Ácido abscísico	X	X	X
26	4,28	360	283,0609	283,0612	Dihidroxi-metoxi-flavona	X	X	X
27	4,33	360	301,0345	301,0354	Quercetina*	X	X	X
28	4,54	360	315,0505	315,0510	Tetrahidroxi-metoxi-flavona	X	X	X
29	4,75	280	271,0603	271,0612	Naringerina*	X	X	X

30	4,85	340	269,0461	269,0455	Apigenina*	X	X	X
31	5,05	340	299,0549	299,0561	Trihidroxi-metoxi-flavona	X	X	X
32	5,40	340	299,0549	299,0561	Trihidroxi-metoxi-flavona	X	X	X
33	5,61	340	329,0661	329,0667	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona	X	X	X
34	5,95	280	301,0702	301,0716	Trihidroxi-metoxi-flavanona	X	X	X
35	6,18	360	313,0705	313,0718	Dihidroxi-dimetoxi-flavona	X	X	X
36	6,90	280	285,0750	285,0768	7-metoxi-naringenina*	X	X	X
37	7,05	360	283,0609	283,0612	Dihidroxi-metoxi-flavona	X	X	X

*Comparado com padrão autentico

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 20– Proposta de identificação dos compostos dos méis por UPLC-DAD-QTOFMS-MS das amostras *A. mellifera* e *M. mandacaiá*

Comp	Rt	λ (nm)	Calculado	Tentativa de identificação	
1	0,32	271	549,1614	387,1102[M-H-hexose] ⁻ ; 295,9734[M-H-hexose-pentose] ⁻	Flavonona-pentose-hexose
2	0,70	328	144,0455		4-quinolona
3	1,17	270	229,0983	211,0493[M-H-H2O] ⁻	NI
4	1,37		327,1038		NI
5	1,52	300	165,0557	147,0433[M-H-H2O] ⁻	Dihidro-ácido-coumarínico
6	1,80	340	609,1461	283,0628[M-2H-2hexose] ⁻	Flavonol-dihexose
7	1,90	340	639,1567	609,1461[M-H-2CH3] ⁻ ; 477,1005[M-H-hexose] ⁻	Trihidroxi- metoxi- flavonol-dihexosideo
8	2,00	300	165,0557	147,0433[M-H-H2O] ⁻	Dihidro-ácido coumarínico
9	2,14	360	300,9990	257,0072 [M-H-CO2] ⁻ , 229,9945 [M-H-CO2-CO] ⁻ , 185,0241 [M-H-CO2-CO] ⁻	Ácido elágico*
10	2,16	300	279,1238	217,1060[M-H-H2O-CO2] ⁻	Ácido-dihidroxi-abscísico
11	2,39	360	785,2146	623,1618[M-H-hexose] ⁻ ; 497.3369[M-H-2H2O-hexose] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavona-trihexose
12	2,45	260	333,0616	315,0471[M-H-H2O] ⁻ ; 284,0307[M-H-CH3O] ⁻	Tetrahidroxi-metoxi-flavonol
13	2,50	340	623,1618	593,3466[M-H-CH3O] ⁻ ; 463,1875[M-H-hexose] ⁻ ;	Trihidroxi-metoxi-flavona-dihexose
14	2,75		543,2792		NI-
15	2,87	260	333,0616	284,0307[M-H- H2O-CH3O] ⁻	Tetrahidroxi-metoxi-flavonol
16	2,95	260	333,0616	284,0307[M-H- H2O-CH3O] ⁻	Tetrahidroxi-metoxi-flavonol
17	3,09		361,1497		NI-
18	3,14		573,2891		NI-
19	3,24		480,1438		NI-
20	3,28	256	329,1021	301,0383[M-H-CO] ⁻ ;	Hidroxi-trimetoxi-flavanona
21	3,34		363,1625		NI-
22	3,45		573,2881		NI-
23	3,54	280	263,1289	219,1366[M-H-CO2] ⁻ ; 204,1132[M-H-CH3] ⁻	Ácido abscísico
24	3,68		723,4895		NI
25	3,77		723,4895		NI
26	3,87	278	287,0561	259,9099 [M-H-CO] ⁻	Tetrahidroxi-flavanona
27	3,90		199,0976		NI

Tabela 20 – Proposta de identificação dos compostos dos méis por UPLC-DAD-QTOFMS-MS das amostras *A. mellifera* e *M. mandacaiá* (Continuação)

28	3,95	356	477,1039	287,0538[M-H-CO- hexose] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanol-hexose
29	4,00		949,6611		NI
30	4,12	280	263,1289	219,1366[M-H-CO ₂] ⁻ ; 204,1132[M-H-CH ₃] ⁻	Ácido abscísico
31	4,14	360	285,0405	257,0378 [M-H-CO] ⁻	Luteolina*
32	4,22		321,1609		NI
33	4,26		323,1765		NI
34	4,28	360	301,0354	283,0178 [M-H-H ₂ O] ⁻ ; 273,0399 [M-H-CO] ⁻	Quercetina*
35	4,33	360	315,0510	300,0249 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 271,0222 [M-2H-CH ₃ -CO] ⁻	Tetrahidroxi-metoxi-flavona
36	4,50		321,1609		NI
38	4,54	360	315,0510	300,0234 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 271,0215 [M-2H-CH ₃ -CO] ⁻	Tetrahidroxi-metoxi-flavona
39	4,60		323,1765		NI
40	4,75	280	271,0612	253,0455 [M-H-H ₂ O] ⁻	Naringerina*
41	4,85	340	269,0455	239,9015[M-2H-CO] ⁻	Apigenina*
42	4,96	280	301,0716	286,0402[M-H-CH ₃] ⁻ ; 283,0220[M-H-H ₂ O] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona
43	5,02	360	283,0612	268,0362 [M-H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi-metoxi-flavona
44	5,05	340	299,0561	284,0321[M-H-CH ₃] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavona
45	5,10		323,1765		NI
46	5,18	280	301,0716	285,9039[M-2H-CH ₃] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona
47	5,23	340	299,0561	284,0321[M-H-CH ₃] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavona
48	5,38	340	299,0561	284,0321[M-H-CH ₃] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavona
49	5,42	340	329,0667	314,0491[M-H-CH ₃] ⁻ ; 299,8727[M-H-2CH ₃] ⁻ ; 271,9001[M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona
50	5,52	340	329,0667	314,0447[M-H-CH ₃] ⁻ ; 299,0198[M-H-2CH ₃] ⁻ ; 271,0164[M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona
51	5,61	340	329,0667	314,0491[M-H-CH ₃] ⁻ ; 299,8727[M-H-2CH ₃] ⁻ ; 271,9001[M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona
52	5,74	280	301,0716	285,9039[M-2H-CH ₃] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona
53	5,80	360	283,0612	268,0346[M-H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi-metoxi-flavona
54	5,95	280	301,0716	285,9039[M-2H-CH ₃] ⁻	Trihidroxi-metoxi-flavanona
55	6,00	360	313,0718	298,0453 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 283,0211 [M-H-2CH ₃] ⁻ ; 255, 0267 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Dihidroxi-dimetoxi-flavona
56	6,08	360	315,0510	300,0257 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 271,0223 [M-2H-CH ₃ -CO] ⁻	Tetrahidroxi-metoxi-flavona

Tabela 20 – Proposta de identificação dos compostos dos méis por UPLC-DAD-QTOFMS-MS das amostras *A. mellifera* e *M. mandacaiá* (Continuação)

57	6,12	360	313,0718	283,0211 [M-H-2CH ₃] ⁻	Dihidroxi-dimetoxi-flavona
58	6,18	360	313,0718	298,0453 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 283,0211 [M-H-2CH ₃] ⁻ ; 255, 0267 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Dihidroxi-dimetoxi-flavona
59	6,20	360	315,0510	300,0257 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 271,0223 [M-2H-CH ₃ -CO] ⁻	Tetrahidroxi-metoxi-flavona
60	6,40	360	315,0510	300,0257 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 271,0223 [M-2H-CH ₃ -CO] ⁻	Tetrahidroxi-metoxi-flavona
61	6,56	340	329,0666	314,0447[M-H-CH ₃] ⁻ ; 299,0198 [M-H-2CH ₃] ⁻ ; 271,0164[M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Trihidroxi-dimetoxi-flavona
62	6,66	360	343,0823	325,1767[M-H-H ₂ O] ⁻ ; 297,1517 [M-2H-3CH ₃] ⁻	Dihidroxi-trimetoxi-flavona
63	6,68	280	285,0768	269,7814 [M-2H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi-metoxi-flavonona
64	6,75	360	343,0823	325,1767[M-H-H ₂ O] ⁻ ; 297,1517 [M-2H-3CH ₃] ⁻	Dihidroxi-trimetoxi-flavona
65	6,84	350	253,0506		Dihidroxi-flavona
66	6,89	360	283,0612	268,0346[M-H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi-metoxi-flavona
67	6,90	280	285,0768	269,7814 [M-2H-CH ₃] ⁻	7-metoxi-naringenina*
68	7,00	260	255,0663		Dihidroxi-flavanona
69	7,05	360	283,0612	268,0346[M-H-CH ₃] ⁻	Dihidroxi-metoxi-flavona
70	7,55	360	313,0718	298,0453 [M-H-CH ₃] ⁻ ; 283,0211 [M-H-2CH ₃] ⁻ ; 255, 0267 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	Dihidroxi-dimetoxi-flavona
71	7,62	256	355,1187	325.1852[M-H-2CH ₃] ⁻ ; 327.1229[M-H-CO] ⁻	Trihidroxi-dimetil-flavonona

NI- Não identificado; *Comparado com padrão autêntico.

Fonte: MORENO, 2019

3.1.4 Teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antirradicalar (DPPH) dos méis das abelhas mandaçaia (*Melipona mandacaia*) e *Apis mellifera*.

Os resultados das análises teor de flavonoides, fenólicos totais e atividades antirradicalares frente ao radical DPPH dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona mandacaia* estão nas Tabelas 21 e 22. Os testes foram realizados com as amostras de mel *in natura*. A metodologia para estes testes com méis *in natura* foi descrita pela primeira vez para méis de *Melipona subnitida* (jandaíra) e conforme análise demonstra resultados próximos com os obtidos nesse estudo (SILVA et al., 2013).

O teor de compostos fenólicos variou de 0,37 a 0,82 miligramas equivalentes ao ácido gálico por grama do mel (mgGAE/g) para as amostras de *A. mellifera* e o teor de fenólicos das amostras de *M. mandacaia* variou de 0,20 a 0,86 miligramas equivalente ao ácido gálico por grama do mel (mgGAE/g), resultado com relativa semelhança aos encontrados para méis *in natura* de *Melipona subnitida* (jandaíra) (1,1 a 1,3) (SILVA et al., 2013).

O teor de flavonoides das amostras de *A. mellifera* variou de 0,01 a 0,08 miligramas equivalente a quercetina por cada grama de mel (mgEQ/g de Mel) (Tabela 21). Já o teor de flavonoides para as amostras de *Melipona mandacaia* variou de 0,01 a 0,08 miligramas equivalente a quercetina por cada grama de mel (mgEq/g de Mel) (Tabela 22).

As atividades antirradicalares frente ao radical DDPH, foram representadas com a CE_{50} . Nas amostras de *Apis mellifera* a CE_{50} variou de 44,92- 74,64, e uma amostra ficou acima de 100 $mg.mL^{-1}$, sendo esta não considerada com bom potencial antioxidante, e para *M. mandacaia* os resultados obtidos da CE_{50} variaram de 28,27 a 99,72 $mg.mL^{-1}$ (DPPH), as amostras que ficaram acima de 100 $mg.mL^{-1}$, também foram não consideradas com bom potencial antioxidante. Quando comparados com os dados (11,1 a 12,9) de Silva et al., (2013) da literatura, as amostras tanto de *Apis* como de *Melipona mandacaia* podem ser consideradas com potencial antioxidante em mel *in natura*.

Provavelmente a atividade antiradicalar tanto de *Apis mellifera* como de *Melipona mandacaia* está relacionada com os flavonoides presentes nos méis, uma vez que foram identificados flavonoides, dentre eles a quercetina e luteolina conhecidos por apresentar estas atividades (BURDA; OLESZEK, 2001). A atividade antirradicalar apresentada pelas amostras estudadas de méis *in natura* indicam o potencial antioxidante do mel de destas abelhas com tipo polínico *Mimosa tenuiflora* (jurema preta) predominante.

Tabela 21– Dados do teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antirradicalar (DPPH) dos méis da abelha *Apis mellifera* ^a

Amostras	Teor de Fenólicos mg EAG/g de Mel	Teor de Flavonoides mg EQ/g de Mel	DPPH ^a CE ₅₀ (mg/mL)
A1	0,63 ± 0,01	0,03 ± 0,005	85,53±1,4
A2	0,58 ± 0,02	0,02 ± 0,002	51,66±0,8
A3	0,82 ± 0,03	0,06 ± 0,007	44,92±0,9
A4	0,59 ± 0,02	0,03 ± 0,006	45,26±0,6
A5	0,55 ± 0,01	0,01 ± 0,004	57,52±1,1
A6	0,78 ± 0,01	0,03 ± 0,005	59,22±2,2
A7	0,75 ± 0,009	0,02 ± 0,005	65,33±2,8
A8	0,76 ± 0,008	0,03 ± 0,000	67,55±1,0
A9	0,38 ± 0,01	0,01 ± 0,003	74,64±0,6
A10	0,37 ± 0,01	0,04 ± 0,002	60,20±1,0
A11	0,43 ± 0,00	0,03 ± 0,003	73,01±0,8
A12	0,54 ± 0,005	0,05 ± 0,001	52,00±1,3
A13	0,47 ± 0,01	0,05 ± 0,004	> 100
A14	0,55 ± 0,01	0,08 ± 0,004	76,46 ± 1,7
Ac. Ascórbico	-	-	6,02 ± 0,10

^a valor médio ± desvio padrão, n = 3, Concentração de antioxidante necessária para reduzir a quantidade inicial dos radicais em 50%.

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 22– Dados do teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antirradicalar (DPPH) dos méis da abelha Mandaçaia (*Melipona mandacaia*)^a

Amostras	Teor de Fenólicos mg EAG/g de Mel	Teor de Flavonoides mg EQ/g de Mel	DPPH ^a CE ₅₀ (mg/mL)
M1	0,86 ± 0,02	0,07 ± 0,005	48,11±0,7
M2	0,85 ± 0,05	0,08 ± 0,005	41,88±0,3
M3	0,51 ± 0,01	0,05 ± 0,007	52,02±2,7
M4	0,83 ± 0,03	0,05 ± 0,009	61,22±1,4
M5	0,76 ± 0,03	0,04 ± 0,002	55,08±1,7
M6	0,64 ± 0,02	0,03 ± 0,001	72,79±1,2
M8	0,67 ± 0,02	0,02 ± 0,004	49,84±1,5
M9	0,55 ± 0,05	0,03 ± 0,003	45,64±1,6
M18	0,22 ± 0,01	0,01 ± 0,002	> 100
M19	0,41 ± 0,01	0,03 ± 0,001	> 100
M20	0,47 ± 0,01	0,03 ± 0,002	> 100
M21	0,22 ± 0,01	0,02 ± 0,005	> 100
M22	0,27 ± 0,01	0,05 ± 0,009	> 100
M23	0,20 ± 0,01	0,04 ± 0,010	> 100
M24	0,24 ± 0,01	0,04 ± 0,013	> 100
M25	0,53 ± 0,01	0,10 ± 0,009	41,34±0,3
M26	0,30 ± 0,01	0,02 ± 0,002	> 100
M27	0,21 ± 0,02	0,01 ± 0,001	> 100
M28	0,43 ± 0,01	0,03 ± 0,001	99,21±1,1
M29	0,46 ± 0,02	0,08 ± 0,005	75,05±0,9
M30	0,51 ± 0,01	0,03 ± 0,001	> 100
M31	0,41 ± 0,01	0,04 ± 0,002	> 100
M32	0,47 ± 0,01	0,05 ± 0,003	99,72 ± 2,2
M33	0,45 ± 0,01	0,05 ± 0,002	> 100
M34	0,40± 0,01	0,04± 0,001	> 100
M35	0,52 ± 0,01	0,04 ± 0,001	> 100
M37	0,45 ± 0,01	0,03 ± 0,001	> 100
M38	0,42 ± 0,01	0,03 ± 0,001	> 100
M39	0,65 ± 0,01	0,07 ± 0,001	37,63 ± 1,09
M40	0,58 ± 0,01	0,08 ± 0,002	42,24 ± 2,02
M41	0,49 ± 0,01	0,04 ± 0,005	> 100

M42	$0,38 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,001$	> 100
M43	$0,67 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,002$	$28,37 \pm 0,2$
M44	$0,71 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,004$	$29,27 \pm 0,4$
M45	$0,41 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,005$	> 100
Ac. Ascórbico	-	-	$6,02 \pm 0,10$

^a valor médio $\pm$ desvio padrão, n = 3, Concentração de antioxidante necessária para reduzir a quantidade inicial dos radicais em 50%.

Fonte: MORENO, 2019

3.2 CONCLUSÃO

As análises melissopalínológicas dos méis coletadas de *Apis mellifera* e *M. mandacaia* mostraram a predominância de tipos polínicos da família Fabaceae, em sua maioria da espécie do gênero *Mimosa*, apresentando uma variação de 47,7 a 88% e 51,6 até 92,5% respectivamente de frequência polínica das amostras estudadas.

As análises físico-químicas mostraram um perfil similar nas amostras analisadas. Para *Apis mellifera* (pH – 3,37 - 4,55; acidez livre 25,00 - 52,51 mequiv.Kg⁻¹; atividade de água 0,44 - 0,63; umidade 16,33 - 19,03 %; condutividade 203,66 - 520,00 µS.cm⁻¹; açúcar redutor 63,68 – 75,59 g.100g⁻¹; HMF 2,54 – 19,66 mg.Kg⁻¹; e teor de cinzas 0,08 – 0,22, %) e para *M. Mandacaia* (pH – 3,08 - 3,65; acidez livre 28,33 - 105,83 mequiv.Kg⁻¹; atividade de água 0,60 - 0,74; umidade 21,43 - 32,57 %; condutividade 196,50 - 576,33 µS.cm⁻¹; açúcar redutor 64,09 – 75,28; g.100g⁻¹ HMF 2,64 – 43,16 mg.Kg⁻¹; e teor de cinzas 0,01 – 0,22 %), contribuindo estes resultados para o conhecimento da espécie *M. mandacaia* para possíveis normas futuras de qualidade de abelhas sem ferrão.

Os méis apresentam potencial antioxidante, demonstrado pela atividade antirradicalar frente ao DPPH para *Apis mellifera* (51,66- >100 mg mL⁻¹) e para *M. Mandacaia* (28,37- >100 mg mL⁻¹).

Dos 71 compostos analisados nas amostras de méis, cinquenta e três deles foram identificados. A maior parte dos compostos foram identificados como derivados fenólicos, sendo destes apenas sete não são flavonoides agliconas. Foram identificados 40 flavonoides agliconas sendo 26 flavonas/flavonois e 14 são flavanonas/flavanonois.

REFERÊNCIAS

- ACQUARONE, C.; BUERA, P.; ELIZALDE, B. Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. **Food Chemistry**, v. 101, p. 695–703, 2007.
- ALVES, R. M. de O. U.; CARVALHO, C. A. L. De; SOUZA, B. de A. U.; SODRÉ, G. da S. U. S. P.; MARCHINI, L. C. U. S. P. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2005.
- ÁVILA, S.; BEUX, M. R.; RIBANI, R. H.; ZAMBIAZI, R. C. Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health-promotion properties and modification detection strategies. **Trends in Food Science and Technology**, v. 81, p. 37–50, 2018.
- BARTH, O. M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v. 61, p. 342–350, 2004.
- BATALHA-FILHO, H.; WALDSCHMIDT, A. M.; ALVES, R. M. O. Distribuição potencial da abelha sem ferrão endêmica da Caatinga, *Melipona mandacaia* (Hymenoptera, Apidae). **Magistra**, v. 23, p. 129–133, 2011.
- BRAGA, J. R.; LIMA, C. B. da S.; RODRIGUES, F.; DOS SANTOS, H. C.; RIBEIRO, M. de F. Tipos polínicos coletados por *Melipona mandacaia* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) em Petrolina, PE. In: EMBRAPA SEMIÁRIDO-ARTIGO EM ANAIS DE CONGRESSO (ALICE) 2012.
- BRASIL. Instrução Normativa nº11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel, Diário Oficial da República Federativa do Brasil Brasília^ eDF DF, 2000.
- BRASIL. Legislação: RESOLUÇÃO SAA-52, DE 3, DE OUTUBRO DE 2017 | Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo. 2017. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/resolucao-saa-52-de-3-de-outubro-de-2017,1114.html>>. Acesso em: 2 set. 2019.
- BRAZIL. Regulamento Técnico de Identidade e Padrão do mel elaborado pelas abelhas da subfamília Meliponinae (Hymenoptera, Apidae), conhecidas por Abelhas sem Ferrão-ASF e os requisitos de processamento e segurança alimentar para seu consumo humano direto. 2017.
- BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, p. 2774–2779, 2001.
- CARNEIRO-NETO, T. F. S.; REBOUÇAS, P. O.; PEREIRA, J. E.; DUARTE, P. M.; SANTOS, L. C.; SILVA, G. C.; SIQUEIRA, K. M. M. Spectrum of pollen stored by *Melipona mandacaia* (Smith, 1863) (Hymenoptera: Apidae, Meliponini) in an urban arid landscape. **Sociobiology**, v. 64, p. 284–291, 2017.
- CODEX ALIMENTARIUS. Codex alimentarius: fats, oils and related products. FAO, 2001. v. 8

CRANE, E. **O livro do mel**. 2a. ed. São Paulo. 1983

DA COSTA, A. C. V.; SOUSA, J. M. B.; DA SILVA, M. A. A. P.; DOS SANTOS GARRUTI, D.; 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.

DA SILVA, T. M. G.; DA SILVA, P. R.; CAMARA, C. A.; DA SILVA, G. S.; DE ASSIS, R.; SILVA, T. M. S. Análises químicas e potencial antioxidante do mel de Angico produzido pelas abelhas sem-ferrão jandaira. **Revista Virtual de Química**, v. 6, p. 1370–1379, 2014.

DE FRANÇA ALVES, R.; DOS SANTOS, F. de A. R. Análise volumétrica do pólen de *Attalea funifera* Mart. (Arecaceae) em amostras de pólen apícola do litoral do baixo sul da Bahia, Brasil. **Paubrasília**, v. 1, p. 5–11, 2018.

DO NASCIMENTO, K. S.; SATTTLER, J. A. G.; MACEDO, L. F. L.; GONZÁLEZ, C. V. S.; DE MELO, I. L. P.; DA SILVA ARAÚJO, E.; GRANATO, D.; SATTTLER, A.; DE ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **Food Science and Technology**, v. 91, p. 85–94, 2018.

FELSNER, M. L.; CANO, C. B.; BRUNS, R. E.; WATANABE, H. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. De; MATOS, J. do R. Characterization of monofloral honeys by ash contents through a hierarchical design. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 737–747, 2004.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. Atheneu, 2005.

HOLANDA, C. A.; OLIVEIRA, A. R.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. de S.; SOUZA, J. L.; ARAÚJO, M. J. A. M. Qualidade dos méis produzidos por *Melipona fasciculata* Smith da região do cerrado maranhense. **Química Nova**, p. 55–58, 2012.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A.; OTHERS. **Abelha urucu: biologia, manejo e conservação**. Fundação Acangaú, 1996. v. 2

KHALIL, M.; MONIRUZZAMAN, M.; BOUKRAË, L.; BENHANIFIA, M.; ISLAM, M.; SULAIMAN, S. A.; GAN, S. H.; OTHERS. Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. **Molecules**, v. 17, p. 11199–11215, 2012.

LIMA, Yan. **Inflorescência da espécie vegetal *Waltheria* (Malvaceae)**. 2018. 1 fotografia

LIMA, S. Y. **Origem Botânica do Mel e Pólen de Abelhas Mandaiaias (*Melipona mandacaia*) no Município de Petrolina - PE**. 2017. Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, PE, 2017.

LIRA, A. F.; SOUSA, J. P. L. de M.; LORENZON, M. C. A.; VIANNA, C. A. F. J.; CASTRO, R. N.; OTHERS. Comparative study of honeys produced by *Apis mellifera* with meliponina honeys, v. 8, p. 169–178, 2014.

LOPES, C. G. R.; BEIRÃO, D. C. C.; PEREIRA, L. A.; ALENCAR, L. C. Levantamento da flora apícola em área de cerrado no município de Floriano, estado do Piauí, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 14, 2016.

MAIA-SILVA, C.; SILVA, C. I. Da; HRNCIR, M.; QUEIROZ, R. T. De; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Guia de plantas: visitadas por abelhas na Caatinga**.2012

MATOS, V. R.; ALENCAR, S. M.; SANTOS, F. A. R. Pollen types and levels of total phenolic compounds in propolis produced by *Apis mellifera* L.(Apidae) in an area of the Semiarid Region of Bahia, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, p. 407–418, 2014.

MICHENER, C. D. **The Meliponini**. New York 2013.

NOGUEIRA NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. Nogueirapis, 1997.

OLIVEIRA, R. G. De; JAIN, S.; LUNA, A. C.; FREITAS, L. dos S.; ARAÚJO, E. D. De. Screening for quality indicators and phenolic compounds of biotechnological interest in honey samples from six species of stingless bees (Hymenoptera: Apidae). **Food Science and Technology**, v. 37, p. 552–557, 2017.

PRADO-SILVA, A.; NUNES, L. A.; DE OLIVEIRA ALVES, R. M.; CARNEIRO, P. L. S.; WALDSCHMIDT, A. M. Variation of fore wing shape in *Melipona mandacaia* Smith, 1863 (Hymenoptera, Meliponini) along its geographic range. **Journal of Hymenoptera Research**, v. 48, p. 85, 2016.

RASMUSSEN, C. **Catalog of the Indo-Malayan/Australasian stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini)**. Citeseer, 2008.

SARMENTOS, Tania. **Inflorescência de *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae)**. 2018. 1 fotografia

SARMENTOS, Tania; LIMA, Yan; SANTOS, Francisco. Grãos de pólen da espécie *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae). 2018. 2 fotografias

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

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação 2002.

SOUZA, B. D. A.; MARCHINI, L. C.; ODA-SOUZA, M.; DE CARVALHO, C. A. L.; DE OLIVEIRA ALVES, R. M. Caracterização do mel produzido por espécies de *melipona illiger*, 1806 (Apidae: Meliponini) da região nordeste do Brasil: 1. Características físico-químicas. **Química Nova**, v. 32, p. 303–308, 2009.

WYREPKOWSKI, C.; DA COSTA, D.; SINHORIN, A.; VILEGAS, W.; DE GRANDIS, R.; RESENDE, F.; VARANDA, E.; DOS SANTOS, L. Characterization and quantification of the compounds of the ethanolic extract from *Caesalpinia ferrea* stem bark and evaluation of their mutagenic activity. **Molecules**, v. 19, p. 16039–16057, 2014.

YADATA, D. Detection of the electrical conductivity and acidity of honey from different areas of Tepi. **Food Science and Technology**, v. 2, p. 59–63, 2014.

ZANELLA, F. C. V; MARTINS, C. F. Abelhas da Caatinga: biogeografia, ecologia e conservação. In: **Ecologia e Conservação da Caatinga**.2003

4 ANÁLISE QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E MODULADORA DARESINA DE *MYRACRODRUON URUNDEUVA* ALL.

4.1 INTRODUÇÃO

Os exsudatos são misturas complexas de moléculas grandes e pequenas, incluindo carboidratos, proteínas, aminoácidos, compostos voláteis ou íons inorgânicos liberados de plantas saudáveis durante o processo de exsudação (MIRHOSSEINI; AMID, 2012; NEUMANN; RÖMHELD, 2007; UREN, 2000). São conhecidos por possuir várias propriedades medicinais e também utilizados como ingredientes em medicamentos, alimentos, perfumes e cosméticos (IQBAL; FRY, 2012), e podem variar entre ou dentro de gêneros e espécies (BOER; ELLA, 2000). São de origem vegetal com consistência sólida ou semissólida, tais como resinas, oleoresinas, ceras balsâmas, látex, mucilagens e gomas. A proporção de constituintes pode variar de acordo com o clima, a estação e outros fatores. Nos referimos aos exsudatos obtidos de plantas em seu estado natural ou de insetos que parasitam as plantas (LANGENHEIM, 2003).

Bálsamo é um exsudato de resina ou oleoresinas caracterizado por um alto teor de ácidos benzoico ou cinâmico e seus ésteres. Eles têm um odor "balsâmico" característico. Oleoresinas é um tipo de resina que, por causa de um alto teor de óleo volátil, é mais maleável do que uma que contém pouco ou nenhum óleo. O termo é, no entanto, por vezes reduzido a resina (COPPEN, 1995).

Devido a procura por medicamentos naturais, houve um ressurgimento do interesse pelas resinas extraídas das florestas. O seu uso de resinas naturais em alimentos, remédios e vernizes ou revestimentos protetores remontam a tempo. Algumas resinas naturais são aprovadas pela US Food and Drug Administration para uso em produtos farmacêuticos. A resina balsâmica benzina é usada na medicina chinesa tradicional, a benzoina de Sumatra é amplamente utilizado em preparações farmacêuticas, a *Styrax*, é uma oleoresina usada em preparações farmacêuticas, tais como medicamentos brônquicos, a *Copaíba*, é uma oleoresina que é usada em aplicações farmacêuticas; *Asafoetida* é uma oleoresina é usada em tempero para molhos de carne e em preparações farmacêuticas, a *Galbanum* é usada em perfumes, o principal uso do copal é como um verniz para madeira e papel, *Damar* é uma resina usada em fabricação de tintas, vernizes, revestimentos resistentes à água e materiais de moldagem por injeção. Nos países onde as damars são produzidas, eles encontram uso local para calafetar barcos e bacias. Na Índia, o sal damar é amplamente usado como um incenso e no sistema nativo da medicina,

sangue de dragão é uma resina colorida que tem sido, e ainda é, usado para fins medicinais (COPPEN, 1995).

Recentemente, um relatório científico sobre o potencial terapêutico dos exsudados liberados das plantas, usos medicinais dos exsudatos vegetais e foram apresentadas as atividades biológicas e o potencial farmacológico dos exsudatos vegetais. São descritos diferentes tipos de exsudatos liberados das plantas, seu método de coleta e análises. Todos os relatórios disponíveis sobre várias atividades de exsudatos de plantas, incluindo; antimicrobiano, anti-inflamatório, antioxidante, cicatrização de feridas, antinociceptiva foram discutidos em detalhes. As perspectivas futuras desses exsudatos de plantas para a descoberta de drogas e vários fatores a respeito deles são também destacados, não se encontrando nenhuma informação sobre a resina de *Myracrodruon urundeuva* o que evidencia que é muito provável que não tenha estudos feitos (LICÁ et al., 2018). No Brasil tem sido utilizadas resinas de algumas espécies de plantas a exemplo da Anacardiaceae (MAIA-SILVA et al., 2012).

A família Anacardiaceae possui distribuição tropical e subtropical, incluindo cerca de 70 gêneros e 701 espécies em todo o território mundial. No Brasil ocorrem 15 gêneros e cerca de 70 espécies (ANACARDIACEAE — THE PLANT LIST, 2013), arbustos ou árvores, raramente lianas ou ervas, aromáticos, fruto em geral drupa ou sâmara (SOUZA; LORENZI, 2005). São geralmente árvores ou arbustos (não há ervas nessa família) com canais resinosos que, quando expostos por injúrias, têm um cheiro característico. As Anacardiaceae sempre têm canais resiníferos nos ramos e troncos. As folhas são alternadas, simples ou imparipenadas, às vezes ternadas, sempre sem estípulas. Os canais resiníferos são ricos em taninos. A família distingue-se de outras pela combinação de um disco intra-estaminal, com a presença de vasos resiníferos e o fruto drupáceo. Há dois centros vegetativos: um na Malásia e outro na América andina. Estendem-se da zona quente até ambas as zonas temperadas. No Brasil conhecem-se aproximadamente 40 espécies (CRONQUIST; TAKHTADZHĪAN, 1981).

A família possui representantes com importância alimentar, sendo manga (*Mangifera indica* L.), seriguela (*Spondias mombin* L.) caju (*Anacardium occidentale* L.), e pistache (*Pistacia vera* L.) (BARROSO, 1991; LORENZI; MATOS, 2002). O termo aroeira é utilizado para designar plantas classificadas em três gêneros da família Anacardiaceae: *Schinus*, *Astronium* e *Lithraea*. A aroeira-do sertão ou aroeira-preta é a *Myracrodruon urundeuva* Alemão (Figura III.1), possuindo os sinônimos *Astronium juglandifolium* Griseb. e *Astronium urundeuva* Engl. (MORAES; FREITAS, 1997; SANTOS, 1987).

O gênero *Schinus* tem cerca de 10 espécies, espalhadas principalmente pela América do Sul (CARVALHO; OTHERS, 1994). O gênero *Anacardium* apresenta um pequeno número de

espécies, todas elas originárias da América Central e do Sul à exceção de *Anacardium encardium*, provavelmente procedente da Malásia. A espécie mais importante é *Anarcadium occidentale* (cajueiro) por ser a única cultivada em escala comercial e apresentar o maior grau de dispersão em todo o mundo (WATSON, 1992). O gênero *Astronium*, estabelecido por Jacquin em 1760, pertence à família Anacardiaceae, é neotropical e reúne espécies arbóreas, com frutos de cálice persistente e acrescente no fruto, que resulta num aspecto estrelado, sendo esta característica que dá nome ao gênero (SANTIN; LEITÃO FILHO, 1991).

Algumas espécies do gênero são empregadas na medicina tradicional como antidiarreico, estomáquico e cicatrizante pela presença de taninos e óleo resinas, a exemplo do caju-do-cerrado (*Anacardium humile* A. St. Hil.), da aroeira do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão) e do pimenteiro (*Schinus molle* L.) (ALONSO, 1998; LORENZI; MATOS, 2002; SANGUINETTI, 1989). Outras, do ponto de vista médico, revelam-se ser de interesse ao causarem dermatites em indivíduos suscetíveis, devido aos catecóis presentes na resina secretada (CRONQUIST; TAKHTADZHĪAN, 1981).

Myracrodruon era um subgênero do gênero *Astronium*. O gênero *Myracrodruon* foi revelado e a espécie *Astronium urundeuva* (Fr. Allem.) Engl. passou a ser novamente denominada de *Myracrodruon urundeuva* Fr. Alemão (SANTIN, 1989; SANTIN; LEITÃO FILHO, 1991). Esta espécie é da divisão *Magnoliophyta* (Angiospermae), classe *Magnoliopsida* (Dicotiledônea), ordem Sapindales, Família: Anacardiaceae, Espécie *Myracrodruon urundeuva* Fr. Al. (CRONQUIST; TAKHTADZHĪAN, 1981). *Myracrodruon urundeuva* Fr. Alemão, conhecida como aroeira-do-sertão, é um representante arbóreo da família Anacardiaceae de distribuição natural limitada à América do Sul. No Brasil, a espécie ocorre nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste, associada a ambientes secos de Cerrado, Savanas e Caatingas (SANTIN, 1989).

Segundo Santin & Leitão filho (1991), a *Myracrodruon urundeuva* é uma espécie arbórea, tropical, secundária tardia, o tronco geralmente é curto e tortuoso na Caatinga (Figura 21), mas na floresta pluvial, apresenta fuste com até 12 m de altura. É uma árvore apícola, sendo seu fruto consumido por periquitos e papagaios (CARVALHO; OTHERS, 1994; POTT; POTT, 1994; SANTIN; LEITÃO FILHO, 1991). Exsuda uma resina, proveniente das lesões das cascas, também é coletada pelas abelhas (Figura III.1) (MAIA-SILVA et al., 2012). É uma árvore frondosa, com cerca de 5-20 m de altura, possui folhas compostas, imparipenadas, com 5-7 pares de folíolos ovado-obtusos, pubescentes em ambas as faces da lâmina foliar, quando jovens (SAMPAIO, 2005).

Figura 21– Árvore *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão



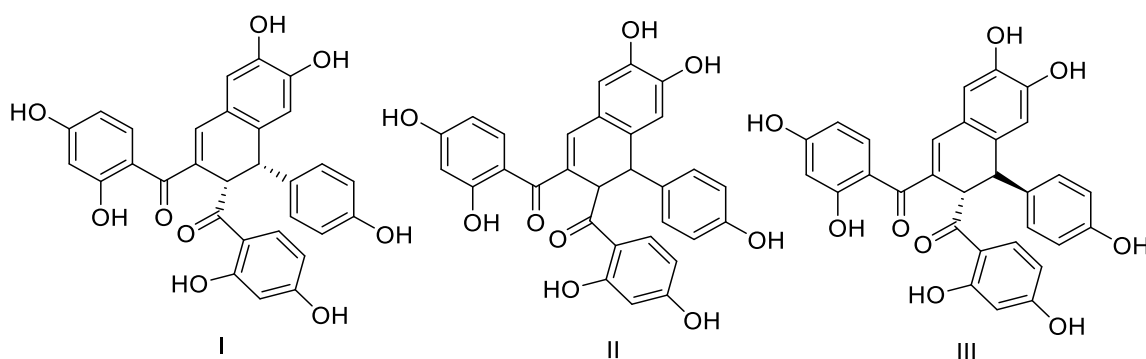
Fonte: SARMENTOS, 2018

Geralmente, esta espécie floresce entre julho e setembro, e a maturação dos frutos ocorre de setembro a outubro (ANDRADE et al., 2000). A polinização de *Myracrodruon urundeuva* é realizada por abelhas, e a dispersão dos diásporos é anemocórica. Seus frutos são do tipo drupa globosa ou ovoide, com cálice persistente, considerado um fruto-semente. A semente é única (0,2 a 0,4 cm de diâmetro), globosa, desprovida de endosperma, com epicarpo castanho escuro, mesocarpo castanho, carnoso, resinífero, com odor característico e tegumento membranáceo (FIGUEIRÔA; BARBOSA; SIMABUKURO, 2004).

Diversos medicamentos tradicionais derivados de várias espécies de plantas são frequentemente utilizados no sistema diário no cuidado de saúde nos países em desenvolvimento (BREITBACH et al., 2013; FERREIRA et al., 2014; VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Além das atividades biológicas aproveitadas pela medicina tradicional e popular, a aroeira-do-sertão apresenta outras propriedades interessantes avaliadas em laboratório. Esta planta é frequentemente utilizada por suas propriedades medicinais, como antisséptico, antimicrobiana, anti-inflamatória, antidiarreico e cicatrização de feridas (DUARTE et al., 2009). Foram isoladas chalconas da casca do caule de *Myracrodruon*

urundeuva e constataram que estes compostos químicos também possuíam os mesmos efeitos que as frações tânicas isoladas deste vegetal (Figura 22) (VIANA; BANDEIRA; MATOS, 2003). Extrato metanólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* apresentou elevada atividade antioxidante *in vitro* (DESMARCHELIER et al., 1999).

Figura 22– Chalconas isoladas da casca do caule de *Myracrodruon urundeuva* segundo Viana et al., (2003)



Fonte: MORENO, 2019

Os produtos naturais das plantas podem mudar ou modular a ação de antibióticos, potencializando ou reduzindo sua atividade (COUTINHO et al., 2008a). Muitas plantas foram avaliadas não apenas por sua ação antibacteriana direta, mas também como modificadores da atividade antibiótica (COUTINHO et al., 2010).

Pesquisa com a ação do extrato aquoso da aroeira-do sertão sobre a colite difusa induzida por ácido acético, em ratos, mostrou efeito anti-inflamatório e antilulcerogênico. Os resultados encontrados comprovam que a aroeira-do-sertão apresenta importantes propriedades farmacológicas, tais como inibição da permeabilidade vascular e de lisossomos e um antagonismo direto para alguns dos mediadores inflamatórios, como a histamina e a bradicinina (RODRIGUES et al., 2002). A entrecasca da aroeira é largamente usada na medicina popular do Nordeste brasileiro para o tratamento de problemas dermatológicos e ginecológicos (MATOS, 2000), sendo verificadas experimentalmente sua atividade cicatrizante (VIANA et al., 1995), anti-inflamatória e antilulcerogênico (MENEZES; RAO; FONTELES, 1986) e a fração de taninos tem ação analgésica e anti-inflamatória (VIANA et al., 1997).

Além do uso medicinal, as cascas de aroeira-do-sertão por apresentar elevado teor de taninos também é aproveitada na indústria de curtume, a resina amarelo-clara, proveniente das lesões da casca é medicamento de larga aplicação entre os sertanejos como tônico e nos mesmos casos em que se usam as cascas, as folhas maduras passam por forrageiras (BRAGA, 2001).

O estudo farmacológico pré-clínico do extrato-aquoso da entrecasca, bem como do extrato hidro alcoólico e, especialmente, do extrato obtido com acetato de etila, mostraram significativo efeito anti-inflamatório, antilulcerogênico e cicatrizante; o extrato aquoso mostrou nível baixo de toxicidade em ratos por via oral, exceto em ratas prenhas quando administrado por longo tempo. Os resultados e observações clínicas permitem recomendar seu uso oral como anti-inflamatório e cicatrizante, indicado no tratamento de ferimentos, infeccionados ou não, na pele, nas gastrites, úlcera gástrica, cervicite, vaginites e hemorroidas (BANDEIRA, 2002).

Os trabalhos publicados com a espécie relatando atividades farmacológicas representam mais de 50%, seguido dos trabalhos que abordam aspectos químicos e agrônômicos. Dentre os trabalhos que abordam estudos químicos, a maioria relata estudos com a parte da planta usada na medicina popular e aborda principalmente a caracterização de taninos (MONTEIRO et al., 2005, 2006; QUEIROZ; MORAIS; NASCIMENTO, 2002), polifenóis e ligninas (MORAIS et al., 1999), caracterização e isolamento de metabólitos secundários (BANDEIRA, 2002). O extrato etanólico de folhas de *Myracrodruon urundeuva* mostrou atividade antiviral contra o rotavírus SA-11 (CECILIO et al., 2016). Atividade anti-leishmania do óleo essencial de *M. urundeuva* foi relatado (CARVALHO et al., 2017).

4.1.1 Resinas naturais

A resina é definida com o nome genérico de uma classe de substâncias, trata-se de um líquido viscoso inflamável, de cor translúcida amarelo/marrom a branco. Alguns gêneros da família Burseraceae (*Elaphrium*, *Icica*, *Canarium* e *Protium*) são produtoras de resina, estas são conhecidas genericamente como elemi e possuem em sua composição triterpenóides tetracíclicos, ácidos elemadienólico e elemadienóico, mas principalmente triterpenóides pentacíclicos, tais como a mistura α - e β - amirina, o maniladiol e a breína (MAIA et al., 2002).

Famílias importantes que produzem resinas são: Burserácea, Dipterocarpacea, Leguminosae (principalmente, Caesalpinioideae), Styracaceae e duas famílias de coníferas, cada uma com um importante gênero produtor de resina, Araucariaceae (*Agathis*) e Pinaceae (LAMBERT et al., 2010). Podem ocorrer em quase qualquer órgão ou tecido das espécies de plantas (RIKKINEN et al., 2016). Esse líquido obtido por incisão no próprio vegetal, não tem composição simples e são fisicamente duras, transparentes ou translúcidas, insolúveis em água, mas podem ser dissolvidas em álcool ou em outros solventes orgânicos e queimam com uma chama fumarenta característica e são provavelmente produtos da oxidação dos terpenos (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997).

As resinas podem ocorrer em misturas homogêneas com óleos voláteis, sendo conhecidas como oleoresinas. Dependendo da quantidade relativa do óleo volátil na mistura, as oleoresinas podem ser líquidas, semissólidas ou sólidas, quando expostas ao ar e à luz endurecem por evaporação e oxidação das essências, resultando em substância de natureza consistente com características próprias. Em geral, observa-se uma pequena quantidade de exsudato natural nas árvores que contêm oleoresinas, devido à agressão por insetos, à quebra de ramos ou outras lesões, podendo obter essa substância pela incisão artificial do córtex ou mesmo da madeira (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997). Todos os exsudatos que foram confundidos com resina no passado agora podem ser distinguidos da resina em sua forma pura por sua composição química e pelos caminhos biossintéticos através dos quais eles são formados (LANGENHEIM, 2003).

A resina das plantas também pode ser definida como uma mistura lipossolúvel de compostos secundários terpenoides e/ou fenólicos voláteis e não voláteis que geralmente são segregados em estruturas especializadas localizadas internamente ou na superfície da planta e de potencial significado nas interações ecológicas. Consistem principalmente em metabolitos ou compostos secundários, aqueles que aparentemente não desempenham nenhum papel na fisiologia primária ou fundamental da planta. Os componentes da resina fenólica que ocorrem nas superfícies dos órgãos das plantas foram utilizados, particularmente em medicamentos, e podem ser úteis como fonte de combustível de biomassa; no entanto, sua significância geral é provavelmente maior como proteção para superfícies vulneráveis das plantas (LANGENHEIM, 2003).

As resinas são amplamente distribuídas no reino vegetal, embora algumas famílias sejam notáveis em representação de uma grande proporção das resinas do comércio (por exemplo, Leguminosae, Burseraceae e Pinaceae) e podem ocorrer em quase todos os órgãos ou tecidos da planta (COPPEN, 1995).

A espécie *Protium heptaphyllum* popularmente conhecida como almecega é encontrada em todo o Brasil em terrenos arenosos secos ou úmidos, com grande incidência na região Amazônica, é produtora de resina sendo conhecida como breu branco, almecega do Brasil, goma-limão (CORRÊA; DE AZEREDO PENNA, 1984). Sua utilização é amplamente difundida, principalmente na medicina popular como analgésico, cicatrizante, anti-inflamatório e expectorante; também é utilizado na indústria de verniz; na calafetação de embarcações e em rituais religiosos (CORRÊA; DE AZEREDO PENNA, 1984; DE FÁTIMA AGRA; DE FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; OLIVEIRA et al., 2004; SUSUNAGA et al., 2001).

Das partes aéreas de *Baccharis grisebachii* (Asteraceae), exsuda uma resina, a qual é usada no tratamento de úlceras, queimaduras e inflamação da pele (FERESIN et al., 2003). Outras atividades incluem: antisséptica, expectorante, carminativa, antiespasmódica, emenagoga e anti-helmíntica. A atividade antioxidante também é observada nas resinas naturais, onde (ASSIMOPOULOU; ZLATANOS; PAPAGEORGIOU, 2005), demonstraram que a resina de *Pistacia lentiscus* var. Chia, e o óleo essencial obtido de *Commiphora myrrh* e *Boswellia serrata*, apresentam significativa atividade. O gênero *Pistacia lentiscus* var. Chia produz uma resina com atividade antioxidante in vitro (ANDRIKOPOULOS et al., 2003).

O uso de resinas naturais é importante porque elas provêm de uma fonte renovável. Geralmente, a maioria das resinas naturais são sistemas multifásicos com alta complexidade química. O estudo de seu comportamento dinâmico molecular em condições naturais requer o uso de um grande conjunto de métodos analíticos complementares (SILVA et al., 2002).

4.1.2 Triterpenos

Triterpenos são constituintes que têm despertado um grande interesse em razão da descoberta do seu potencial farmacológico, com inúmeras atividades terapêuticas, tais como: anticâncer, anti-inflamatório, antileprótico antiviral, antibacteriano, antifúngico, antidiurético, giardicida e inibidores da enzima acetilcolinesterase (AMARAL et al., 2006; BARBOSA-FILHO et al., 2007; BARBOSA FILHO et al., 2006; MAHATO; NANDY; ROY, 1992; MAHATO; SEN, 1997; YASUKAWA; AKIHISA, 2000).

Triterpenos obtidos das entrecascas e outras partes da planta como lupeol, a betulina, o ácido betulínico, o ácido oleanólico, o ácido ursólico ou uma mistura igual dessas substâncias pode ser usado como material de partida para desenvolvimento farmacêutico, devido à sua citotoxicidade contra diversas linhagens celulares de câncer, o grupo de triterpenos lupane, oleanane são considerados como promissores de drogas anticancerígenas. No entanto, devido às suas diversas atividades farmacológicas, incluindo efeitos antiangiogênicos, anti-inflamatórios e antioxidantes e a capacidade de melhorar diferenciação celular, são mais do que um simples fármaco anticancerígeno citotóxico, e são adequados para estratégias modernas de câncer (LASZCZYK, 2009).

De uma perspectiva biológica, supõe-se que as estruturas triterpenóides mais importantes são os esqueletos de carbono oleanano, ursano, lupano e o esqueleto dammarano-eupano. Essas estruturas policíclicas podem ocorrer como triterpenóides livres ou glicosídeos triterpênicos, bem como seus precursores. Os efeitos biológicos correspondentes desses

terpenoides são muito diversos e podem ser resumidos da seguinte forma: efeitos anti-inflamatórios, hepatoprotetores, analgésicos, antimicrobianos, antimicóticos, virostáticos, imunomodulatórios e tônicos. (MUFFLER, et al., 2011).

A pesquisa da literatura revela que betulina, ácido betulínico, ácido oleanólico e ursólico são agentes multialvo, eles se encaixam no conceito de terapia moderna contra o câncer, pelo tratamento do câncer de diferentes lados, incluindo o ambiente tumoral e o sistema imunológico. Outra aplicação possível é combinar triterpenos com agentes quimioterapêuticos comumente usados. Isso pode permitir diminuindo a dose quimioterapêutica sem perda de eficácia, esperando-se que traga consigo menos efeitos adversos e possa até dar efeitos sinérgicos (LASZCZYK, 2009). O potencial farmacológico de triterpenos para tratamento de câncer parece ser alto, embora até agora não tenha nenhuma ensaio clínico publicado usando triterpenos na terapia do câncer, sendo um rico grupo de substâncias naturais anticancerígenas promissoras, e bem como agentes quimiopreventivos (LASZCZYK, 2009).

4.1.3 Biossínteses de triterpenos

Triterpenos é derivada 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). Os triterpenos são derivados de qualquer um dos dois precursores de 30 carbono acíclicos: esqualeno (bactérias) e 2,3-oxiesqualeno (fungos, plantas e animais) Figura. 23. A maioria das estruturas triterpenicas são de natureza tetracíclica e pentacíclica (GHOSH, 2016). Esteróis e triterpenos são sintetizados através da via do ácido mevalônico (MVA). As enzimas que catalisam as várias etapas são indicadas. Abreviaturas das enzimas: FPS, farnesil pirofosfato sintase; SQS, esqualeno sintase; SQE, esqualeno monooxigenase ou epoxidase; LAS, lanosterol sintase; CAS, cicloartenol sintase; CPQ, cucurbitadienol sintase; BAS, β -amirina sintase. Outras abreviaturas: (CBC), cadeira-barco; (CCC), cadeira-cadeira-cadeira Figura. (III.3) (THIMMAPPA et al., 2014).

4.1.4 Ciclização do 2,3-oxidosqualeno: um substrato, uma matriz de produtos

A ciclização de 2,3-oxidosqualeno é catalisada por enzimas conhecidas como oxiesqualeno-ciclases (OSCs), que geram estruturas de esterol ou triterpenos em um processo

que envolve (a) ligação de substrato e pré-organização (dobramento), (b) iniciação da reação por protonação do epóxido, ciclização e rearranjo de espécies de carbocatión, e término por desprotonação ou captura de água para produzir um produto terpeno final Figura 24. A maioria da diversidade de estruturas de triterpenos deriva da ciclização da conformação CCC de 2,3-oxiesqualeno, levando à ciclização inicial para o cátion dammarenilo C-20. Reordenamentos alternativos desta, o cátion pode então resultar, incluindo expansão do anel e deslocamentos de metilo e hidreto que movem o cátion através de uma série de carbocatión intermediários (C-13 → C-14 → C-8 → C-9 → C-10 → C-5 → C-4) (Figuras 24 e 25) (THIMMAPPA et al., 2014). Inicialmente, todos esses processos de ciclização foram propostos de forma concertada; no entanto, já é geralmente aceito que a ciclização é um processo escalonado envolvendo cada intermediário carbocatiónico discreto (MANDER; LIU, 2010). A ciclização de esqualeno-2,3-óxido em plantas ocorre com a formação de um anel adicional de 9,19-três membros, que é uma assinatura de biossíntese do fitosterol. A estrutura química dos cicloartanos baseia-se no 9 β , 19-ciclo-5 α - esqueleto lanostane (cicloartano) (AZIMOVA, 2013).

4.1.5 Óleo resina

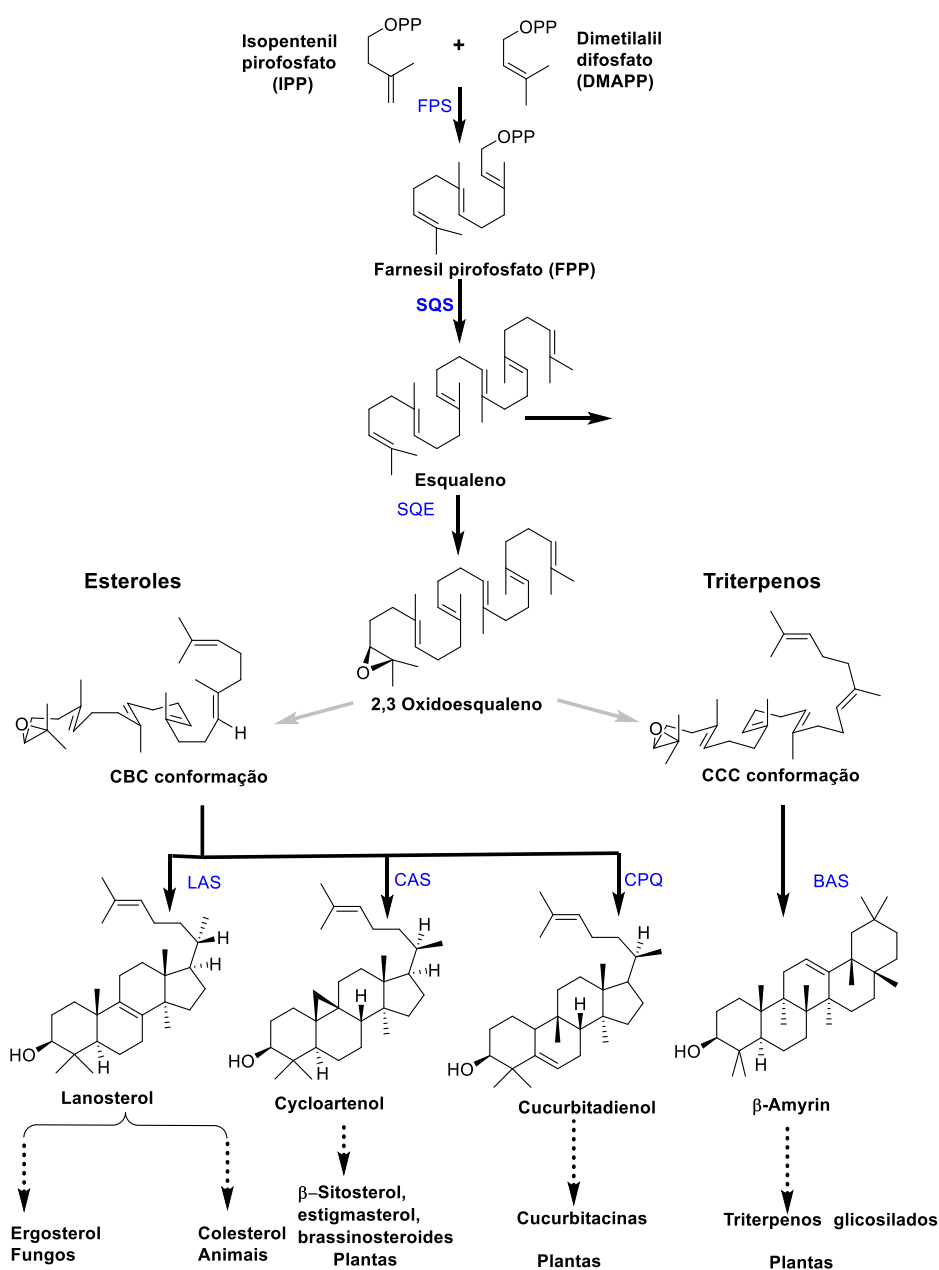
Muitos componentes da resina são referidos como óleos. Óleos e gorduras, no entanto, distinguem-se quimicamente de terpenos em serem ésteres alcoólicos de ácidos graxos. Óleos e gorduras são formados pela síntese de ácidos graxos de carboidratos, seguida pela combinação desses ácidos graxos através de ação enzimática com glicerol para formar ésteres. Os ácidos graxos são longas cadeias de hidrocarbonetos que transportam um grupo carboxila terminal, dando-lhes as características de um ácido fraco. O glicerol forma uma ligação com os grupos carboxila, servindo como um transportador para ácidos graxos (LANGENHEIM, 2003).

4.1.6 Biossínteses de acil glicerol

As enzimas glicerol-3-fosfato aciltransferase (GPAT) catalisam a transferência de um ácido graxo da coenzima (acil Coa) para o glicerol-3-fosfato. GPAT transferem especificamente o ácido graxo para o segundo carbono do glicerol (ns-2) (sn - número de estereoquímica) e têm reatividade fosfatase, enquanto o GPAT é menos discriminatório entre as posições aceitadoras (carbonos n-1 e n-2). Ao contrário da maioria das outras enzimas GPAT, elas preferencialmente transferem o grupo acila para a posição ns-2 do glicerol, produzindo 2-monoacilglicerol. Estas enzimas também têm atividade de fosfatase e podem remover o fosfato do aceitador de acilo

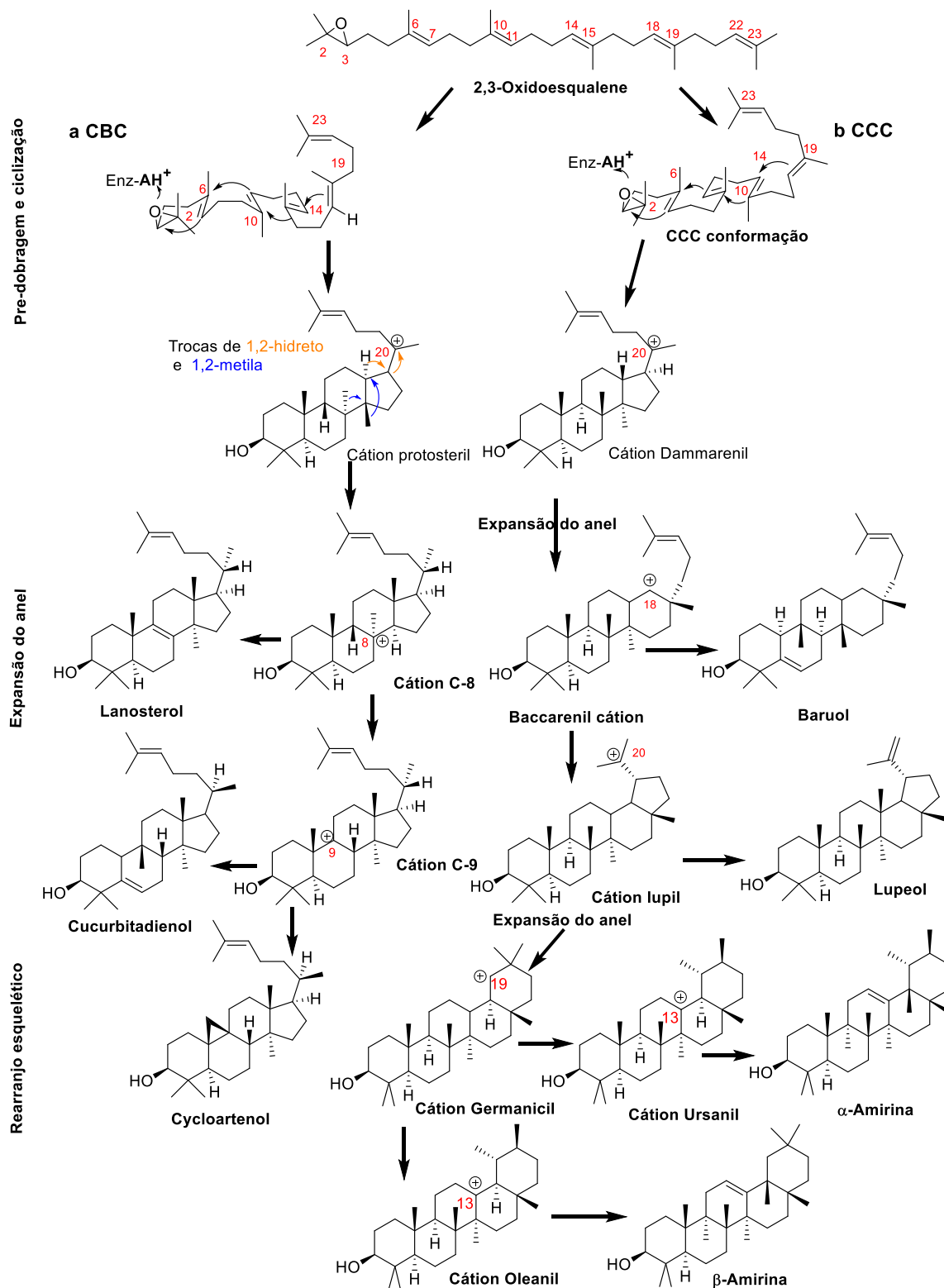
glicerol-3-fosfato gerando uma mistura dos monoglicerols sn-1 e sn-2 (Figura 26) (YANG et al., 2010, 2012).

Figura 23– Rota Biosintética de esteroides e triterpenos segundo Thimmappa. et al., (2014)



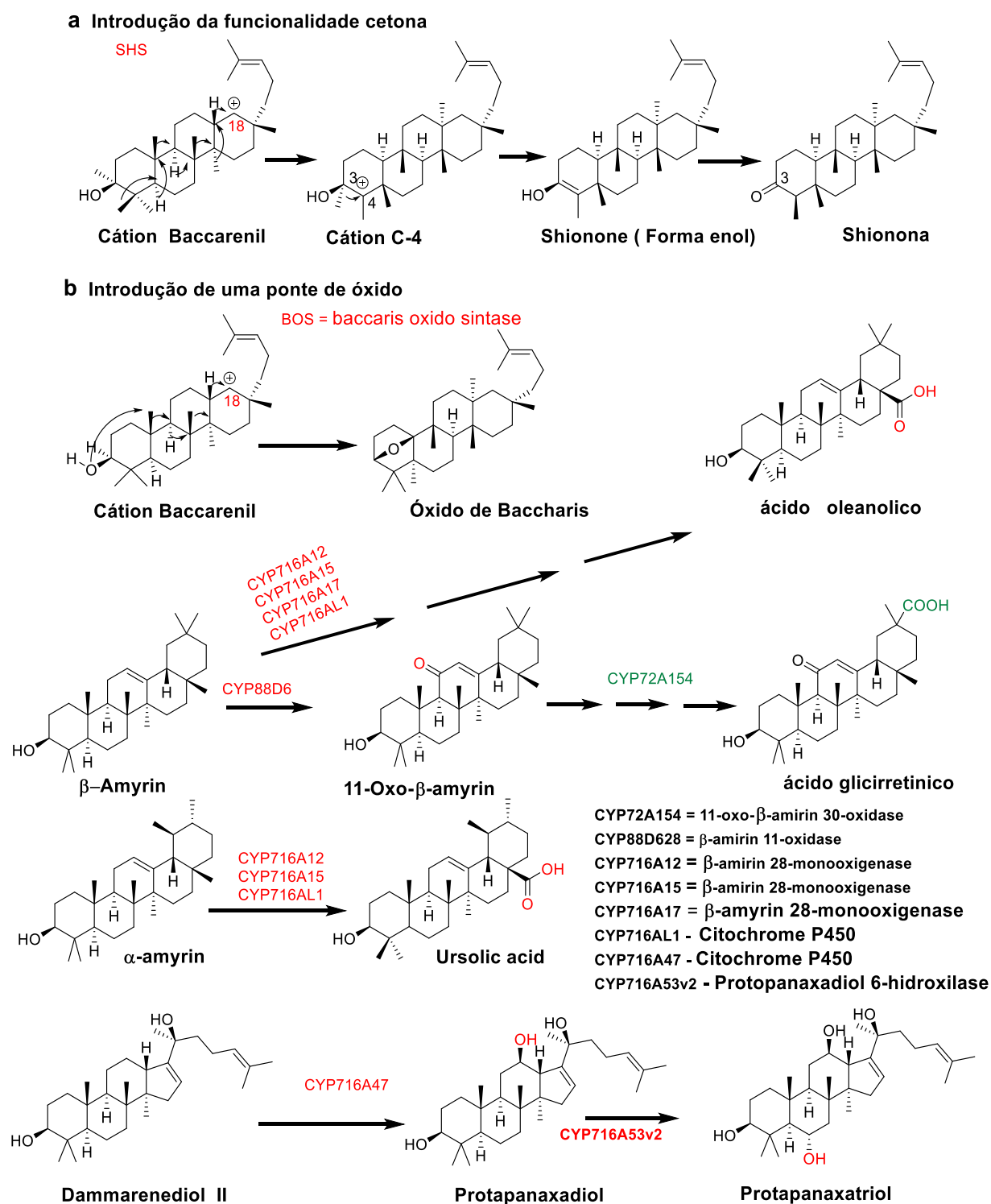
Fonte: MORENO, 2019

Figura 24– Matriz de rota biosintética de alguns esteróis e triterpenos segundo Thimmappa et al., (2014)



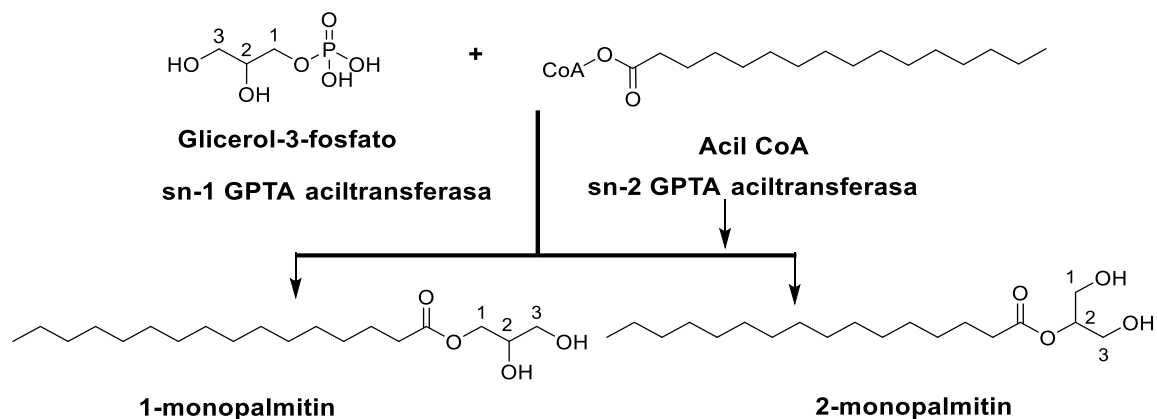
Fonte: MORENO, 2019

Figura 25– Matriz de produtos de algumas funções químicas segundo Thimmappa. et al. (2014)



Fonte: MORENO, 2019

Figura 26– Rota biosintética de acil gliceróis segundo FICH; SEGERSON; ROSE, 2016; SIMPSON; OHLROGGE, 2016



Fonte: MORENO, 2019

4.2 OBJETIVO

4.2.1 Objetivo geral

Analisar quimicamente e avaliar o espectro de atividade antimicrobiana e moduladora da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão (aroeira-do-sertão) frente a cepas padrão *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a composição química da resina por Cromatografia gasosa (CG), Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e UPLC-DAD-qTOF-MS/MS;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e avaliar a atividade antimicrobiana e moduladora da fração hexânica.

4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

4.3.1 Solventes e reagentes

Para realização da pesquisa utilizou-se os seguintes reagentes e solventes: hexano (99,5%) acetato de etilo (99,8%), diclorometano (99,5%); (Dinâmica, Química Contemporânea, Brasil), etanol absoluto (Audaz. Brasil), metanol (99,9%) França CER. Brasil, água deionizada por osmose reversa e como revelador foi utilizado o reagente de Liberman e detecção por irradiação ultravioleta 254 e 336 nm (LUB01, Boitton, Porto Alegre, Brasil). Para a cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foram usadas cromatofolhas de sílica gel 60F-254 (Merck, Darmstadt, Alemanha).

4.3.2 Coleta do material vegetal

A resina foi coletada do tronco da espécie de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All, Anacardiaceae em Limeira, Pilão Arcado, Bahia, Brasil, em janeiro de 2015. Uma exsicata da espécie foi depositada no herbário, Vasconcelos Sobrinho da Universidade Rural Federal de Pernambuco, Recife, estado de Pernambuco, Brasil. sob o número de registro 53793. Cadastro nº AE0D357 no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético.

4.3.3 Obtenção do extrato etanólico bruto

A resina bruta de *M. urundeuva* (70,96 g) foi triturada e submetida à maceração exaustiva, utilizando etanol como solvente (200 mL) e ultrassom para agitação, em recipiente de vidro hermeticamente fechado, à temperatura ambiente. Foram realizadas um total de cinco extrações, com a reposição do solvente. O macerado extraído passou por processo de filtração e evaporação do solvente em evaporador rotativo Fisaton modelo 801, Brasil à pressão reduzida com temperatura não superior a 50 °C, obtendo-se 13,98 g do extrato etanólico o que corresponde a 19,57 % de rendimento.

4.3.4 Obtenção das frações

O extrato etanólico foi particionado de acordo com a solubilidade dos constituintes químicos presentes, em solventes de polaridade crescente. Foi utilizado 13,98 g do extrato etanólico para a partição líquido-líquido. A extração subsequente com 100 mL de cada solvente a particionar, com posterior eliminação dos solventes em evaporador rotativo e secagem obtendo-se as seguintes fases: MeOH:H₂O (0,95 g), AcOEt (3,38 g), e Hex (9,35 g).

4.3.5 Isolamento dos constituintes químicos da resina

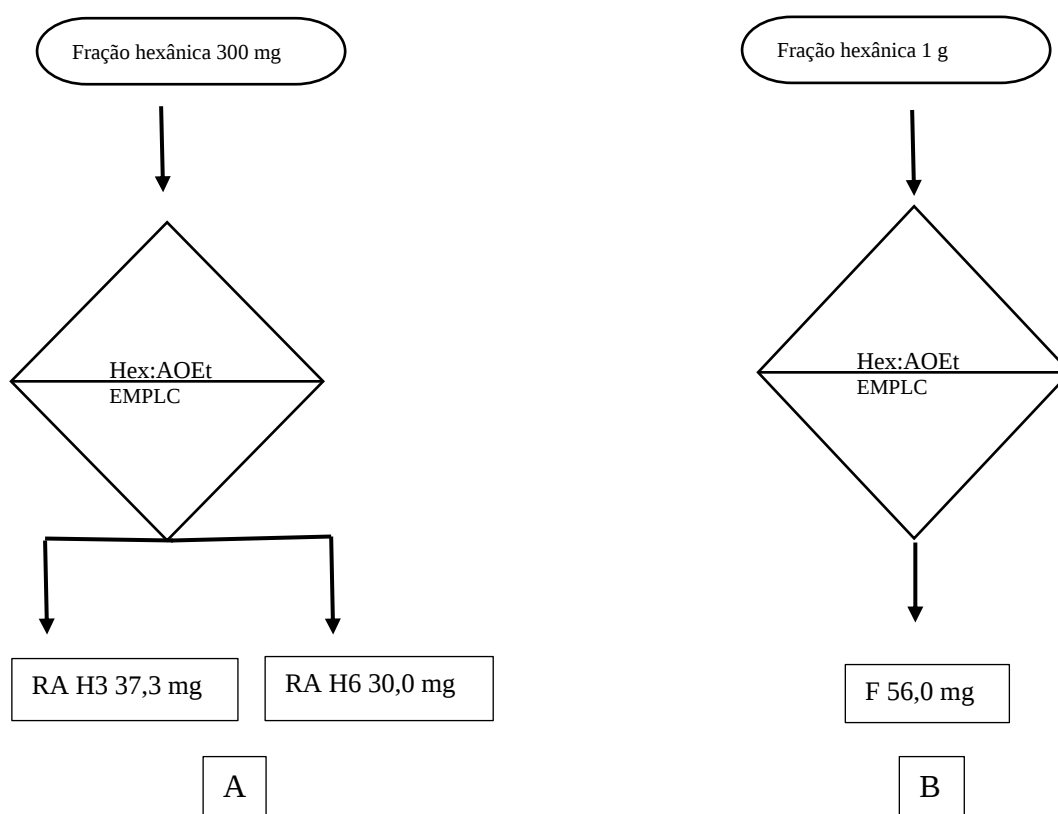
Uma parte da fração hexânica (300 mg) foi submetido a cromatografia em coluna utilizando sílica como fase estacionária e gradiente de n-hexano e acetato de etila. 300 mg da fração de hexano foram dissolvidos em 2 mL de acetato de etila, injetados em EPCLC AI-580S Yamazen Corporation Osaka Japão com uma coluna de injeção de gel de sílica 70 µm, 14 g tamanho M, dimensões 20 x 75 mm e uma coluna de sílica 40 µm - 16 g, tamanho M, dimensões 23 x 123 mm. O gradiente de eluição foi executado sob os seguintes condições: Inicialmente, foram mantidos 100% de hexano (A) e 0% de acetato de etila (B) durante 10 minutos, diminuindo para 97% (A) em até 6 min e sendo mantidos até 20 min, diminuindo para 94% (A) dentro de 4 minutos e sendo mantida até 20 min, diminuindo de novo para 80% (A) dentro de 4 minutos e sendo mantida até 80 min, aumentado linearmente o componente (B). O método utilizado teve um modo de tempo com um caudal de 22 mL em 40 min. As amostras foram monitorizadas por CCD realizada em placas de gel de sílica Merck (60F-254). O processo levou ao isolamento de duas misturas RA H3 37.3 mg (12,43 %) e RA H6 30,0 mg (10%) (Figura 27 A).

Também 1 g da fração de hexano foram dissolvidos em 2 mL de acetato de etila e injetados em EPCLC AI-580S Yamazen Corporation Osaka Japão com uma coluna de injeção de gel de sílica 70 µm, 14 g tamanho M, dimensões 20 x 75 mm e uma coluna de sílica 40 µm - 60 A, tamanho L, dimensões 3 x 17 cm - 40 g. O gradiente de eluição foi executado sob os seguintes condições: Inicialmente, foram mantidos 100% de hexano (A) e 0% de acetato de etila (B) durante 10 minutos e sendo mantidos até 15 minutos, diminuindo para 90% (A) em até 10 min e sendo mantidos até 30 min, diminuindo para 80% (A) dentro de 15 minutos e sendo mantida até 30 min, diminuindo de novo para 65% (A) dentro de 10 minutos e sendo mantida até os 120 minutos, aumentado linearmente o componente (B). O método utilizado teve um modo de tempo com um caudal de 22 mL em 40 min. As amostras foram monitorizadas por

CCD realizada em placas de gel de sílica Merck (60F-254). O processo levou ao isolamento da mistura F 56 mg (5,6 %) de rendimento (Figura 27 B).

A rotação óptica de F foi obtida num polarímetro Jasco, modelo P-2000, operando com lâmpada de Tungstênio, em comprimento de onda de 589 nm e temperatura de 25 °C. Utilizou-se uma cubeta de 2,5 mm de diâmetro por 100 mm de caminho óptico. As medições foram feitas em triplicatas e o tempo de duração de cada análise foi de 15 segundos. Antes de cada análise foi obtido o branco do solvente para a correção dos valores.

Figura 27– Marcha de isolamento por EPCLC de A RA H3, RA H6 e B de F



Fonte: MORENO, 2019

4.3.6 Identificação estrutural dos componentes químicos das misturas RA H3, RA H6 e F

As misturas isoladas foram caracterizadas por técnicas espectroscópicas; cromatografia gasosa e espectrometria de massa (GC-MS), infravermelho transformada de Fourier (FTIV) e

ressonância magnética nuclear (RMN) e a fração hexânica como as misturas foram submetidas a cromatografia líquida de alta eficiência UPLC-PDA-qTOF-MS/MS.

A análise de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) da fração hexânica e das misturas obtidas a partir da resina de *M. urundeuva* foi realizada utilizando um equipamento VARIAN FT / IR-640-IR em KBr. Os espectros foram obtidos com uma resolução de 4 cm^{-1} e número de onda entre $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos usando um espectrômetro VARIAN a uma frequência de ressonância de 400 MHz e calibrados usando solvente deuterado residual como referência interna (CDCl_3 ; 7,26 ppm RMN de ^1H , e 77,0 ppm de RMN ^{13}C), com o uso de nitrogênio pré-refrigerado, bobina do aquecedor e controlador de temperatura variável, a temperatura era estável a 298 K. Os espectros DEPT (espectro de transferência de polarização) foi registrada com uma banda larga de dois canais de 10 milímetros, detecção direta, sonda de temperatura variável com desacoplamento de prótons e 2D de bloqueio a 76,773 MHz. O desacoplamento inverso dos prótons fechado foi realizado através da sequência WALTZ.16. Os espectros de DEPT foram registrados com 12.000 aquisições, atraso de reciclagem de 10 s e largura de varredura de 42 kHz. O número de scans foi de 1000 e foi usado a ampliação de linha de 2,0 Hz no desenho. Para os experimentos de ^1H , DQCOSY, gCOSY, gHSQC, gHMBC, foi utilizada uma detecção inversa de três canais de 5 mm, um gradiente de três eixos, uma sonda de temperatura variável com 2D de bloqueio a 76,773 MHz. Os espectros ^1H foram registrados com 1000 aquisições, atraso de reciclagem de 4 s, largura de pulso de 4 s (90) e largura de varredura de 6 kHz. Os espectros COSY (espectroscopia correlacionada) foram registrados com ciclagem em fase de gradiente, 200 aquisições e dados de 1 K acima de 3,2 kHz na dimensão F2 e atraso de reciclagem de 4 s. A dimensão F1 cobriu a largura de varredura de 3,2 kHz com 256 incrementos. Os dados da transformada de Fourier foram preenchidos de zero a 1 K por 1 K pontos.

4.3.7 Análise de cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS)

A cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massa foi realizada em um cromatógrafo de gás Perkins Elmer Clarus 580 acoplado com um espectrômetro de massa MS Clarus SQ 8 S e equipado com uma coluna capilar HP 5 MS 30 m 0,25 mm 0,25 m dos EUA. O fluxo constante da coluna foi ajustado em $1\text{ mL} = \text{min}$. O sistema foi operado nas seguintes condições: temperatura de injeção $100\text{ }^\circ\text{C}$; temperatura da linha de transferência $300\text{ }^\circ\text{C}$; programa de temperatura do forno $80\text{ }^\circ\text{C}$; taxa $8\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$; temperatura final $320\text{ }^\circ\text{C}$.

sustentado em 10 min; tempo final 37,5 min. Espectro de massa foram tomadas a 70eV; um intervalo de varredura de 0,5 s e fragmentos de 45 a 450 Da. Identificação de compostos: Interpretação do espectro de massa de GC-MS foi feita usando o banco de dados do Instituto Nacional Estânder e Tecnologia (NIST). O espectro de massa dos fito químicos foi comparado com o espectro de compostos conhecidos armazenados na biblioteca NIST (KADHIM; MOHAMMED; HAMEED, 2016).

4.3.8 Análise da resina por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS

As separações cromatográficas foram realizadas utilizando uma coluna Acquity BEH (2,1 x 50 mm, 1,7 μ m, 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 μ L. O gradiente de eluição utilizado foi: 0,0-8,0 min 50%-98% de B; 8,0-9,0 min, 98%-100% de B e 9,0-10,0 min, 98%-100% de B, o monitoramento foi feito a 340 nm. O espectrômetro de massas foi operado em modo negativo e positivo de ionização (ESI^- e 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 análise dos dados foi realizada utilizando o software Waters MassLynx.

4.3.9 Atividade antimicrobiana da fração hexânica de *Myracrodruon urundeuva*

Os testes antimicrobianos foram realizados sob a supervisão de Fernando Gomes Figueredo e Johnatan Wellisson da Silva Mendes no laboratório de microbiologia e biologia molecular universidade da região de Cariri (URCA), AV. CEL ANTONIO LUIZ, 1161. CRATO (CE), BRAZIL. CEP:63000-000

Para execução da CIM (Concentração Inibitória Mínima) e da modulação, a amostra foi solubilizada em Dimetilsulfóxido (DMSO), na proporção: 10mg da amostra solubilizados em 1mL de DMSO. Posteriormente, foram realizadas diluições em água destilada para obter uma concentração inicial da solução de 2048 $\mu\text{g/mL}$. Para os testes de sensibilidade bacteriana, os microrganismos ATCC (*American Type Culture Collection*) foram obtidos através do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz, Ministério

da Saúde. Foram utilizadas duas linhagens bacterianas padrão, sendo elas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853) e *Staphylococcus aureus* ATCC (25923); e linhagens obtidas a partir de isolados clínicos, sendo elas *Pseudomonas aeruginosa* 31 e *Staphylococcus aureus* 35.

Para avaliação antibacteriana, culturas de bactérias foram mantidas a 4 °C em Brain Heart Infusion Agar (Ágar BHI). Antes dos testes, as linhagens foram repicadas em meio Brain Heart Infusion Broth (Caldo BHI) e incubadas a 37 °C por 24 horas. As suspensões bacterianas previamente padronizadas, foram diluídas 1:10 em Caldo BHI a 10% para obtenção da concentração final de 10^4 cels/mL. Os ensaios para determinação da CIM foram efetuados através do Método de Microdiluição em Caldo, com concentrações variando de 1024 a 2 µg/mL (COUTINHO et al., 2008b; MATIAS et al., 2013).

Para execução dos testes, em cada cavidade foi adicionado 100 µL do meio de cultura, o BHI 10%. A fração foi preparada em concentração dobrada (2048 µg/mL) em relação à concentração inicial definida e volumes de 100 µL foram posteriormente, diluídos seriadamente na placa de microdiluição. Por fim, 100 µL da suspensão bacteriana diluída previamente foram adicionadas aos poços. Além disso, foram utilizados controles negativos contendo 100 µL de BHI 10% e controles positivos contendo o 100 µL do meio de cultura e 100 µL do inóculo bacteriano. As placas preenchidas foram incubadas a 37°C por 24 horas.

Para evidenciar a CIM da amostra, foi preparada uma solução indicadora de resazurina sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após a incubação, 20 µL da solução indicadora foi adicionado em cada cavidade e as placas passaram por um período de incubação de 1 hora em temperatura ambiente. Ao final do período, a leitura foi feita baseada na coloração dos poços, sendo que os azuis indicam ausência de crescimento e os róseos indicam crescimento (MANN; MARKHAM, 1998; PALOMINO et al., 2002). Para avaliar a atividade moduladora da ação antibiótica, inicialmente foi determinada a CIM dos antibióticos Amicacina e Gentamicina, na ausência do extrato, em microplacas estéreis, utilizando o mesmo método descrito anteriormente.

As preparações das soluções de antibióticos foram realizadas com a adição de água destilada estéril até a concentração de 5000 µg/mL e volumes de 100 µL distribuídos seriadamente 1:2 em caldo BHI 10%, onde já havia a suspensão bacteriana diluída (1:10) e o extrato em concentrações subinibitórias (CIM/ 8). Para modulação, foram utilizados os mesmos controles utilizados na determinação da CIM (COUTINHO et al., 2008b). As placas preenchidas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e a leitura realizada pelo uso de resazurina sódica, como citado anteriormente (MATIAS et al., 2013).

4.3.10 Análises estatísticas

Os resultados dos testes foram obtidos em triplicata e expressos como média. Os resultados foram aplicados ANOVA seguido do post-teste de Bonferroni, utilizando o software GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad ® Software, San Diego, Califórnia, EUA). Considerando significância com $p < 0,05$ (MATIAS et al., 2013).

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a eluição da placa foram usados os solventes hexano/acetato (9:1), quando as manchas envolvidas no processo cromatográfico não foram possíveis de visualizar, usou-se a técnica de aquecer as placas até o surgimento de manchas. Para a análise de esteroides/triterpenóides, borrifou-se a placa cromatográfica com o reagente de Lieberman-Buchard, que em seguida foi aquecida a 100°C, até o surgimento de manchas, o que determinou a presença dessa classe de metabólito, como mostrado na Figura 28.

Figura 28– Cromatografia em camada delgada (CCD) da fração hexânica de *M. urundeuva* corada com reagente de Libermann

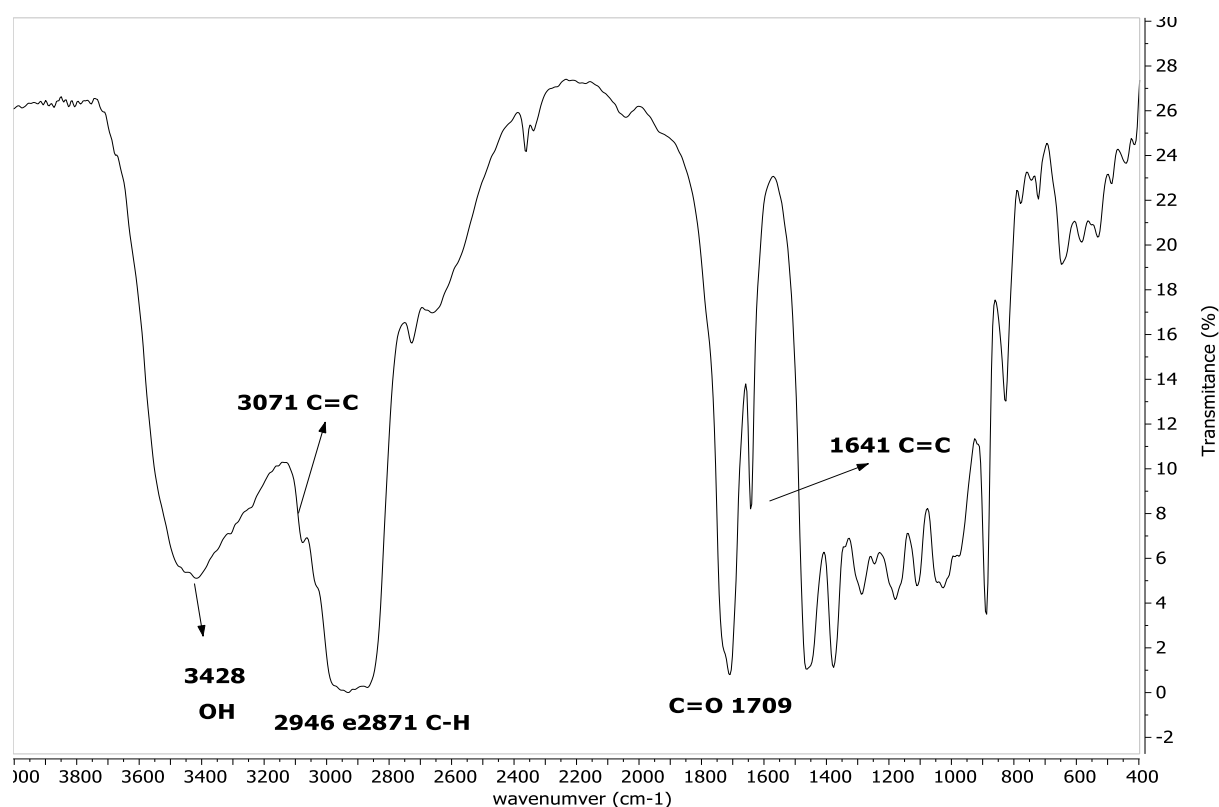


Fonte: MORENO, 2019

4.4.1 Análise da fração hexânica da resina *M. urundeuva* por infravermelho (IV)

O espectro infravermelho da fração hexânica da resina *Myracrodruon urundeuva* (Figura 29) sugere a presença de grupo carbonílico, carboxílico e hidroxila de álcool. O espectro no infravermelho registraram absorções em 3428 cm^{-1} próprias de hidroxilas de álcool ou de ácido pelo alongamento da banda que é produto das ligações de hidrogênio, $3071\text{ e }1641\text{ cm}^{-1}$ próprias de deformação axial C=C, as bandas de $1641\text{ e }886\text{ cm}^{-1}$, também podem ser indicativas de um grupo metileno exocíclico; $2946\text{ e }2871\text{ cm}^{-1}$ deformação axial em estruturas alifáticas, 1456 deformação angular de CH_2 e CH_3 , é encontrado banda intensa a 1709 cm^{-1} que pode ser atribuída a deformação axial de C=O de ácido ou cetona, atribuições semelhantes às descritas (MATHESON; MCCOLLUM, 2014; RUSSO; AVINO, 2012; ZUMBÜHL et al., 2017).

Figura 29– Espectro de IV da fração hexânica da resina *Myracrodruon urundeuva*



Fonte: MORENO, 2019

Os espectros FT-IV de resinas terpênicas naturais são caracterizados por bandas de absorção típicas, de acordo com seus grupos funcionais moleculares. Os espectros típicos de resinas naturais mostram uma banda larga na região de 3500 cm^{-1} devido ao alongamento da presença dos grupos OH, a absorção de grupos C=O e C-O ocorrem respectivamente a $1715\text{ e }1200\text{ cm}^{-1}$.

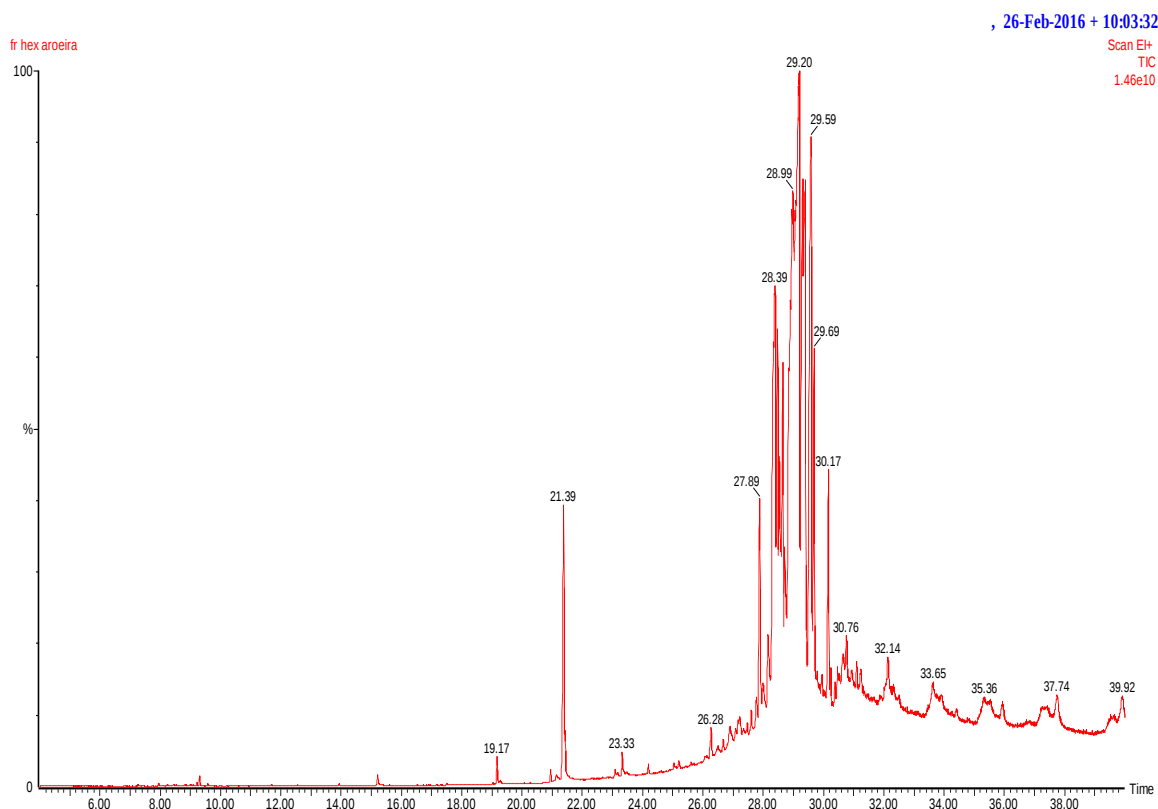
1695 cm^{-1} (forte) e 1240 cm^{-1} (fraco). Os grupos metilo e metilênicos dão uma absorção forte e nítida nas faixas 2960-2930 cm^{-1} e 2875-2865 cm^{-1} (estiramento CH), enquanto as faixas 1467-1448 cm^{-1} e 1387-1382 cm^{-1} são devidas ao CH dobrando (RUSSO; AVINO, 2012).

Uma vez que estes compostos das resinas se oxidam facilmente, podem observar-se uma absorção mais forte e mais ampla na região de banda de alongamento de carbonila ($\text{C} = \text{O}$). Neste contexto, os grupos carbonila são os grupos funcionais mais relevantes em todas as resinas naturais. Com base nas estruturas de anel policíclicas dos terpenos, os ácidos carboxílicos também podem estar localizados em uma posição terciária, o que é verdade para muitos diterpenos. Estes compostos geralmente mostram ($\text{C}=\text{O}$) absorções em torno de 1700-1690 cm^{-1} (ZUMBÜHL et al., 2017). O sinal da carbonila presentes na região de 1690-1750 cm^{-1} e geralmente são encontrados em todas as resinas, mas estão em intensidades diferentes e com posições ligeiramente diferentes devido às estruturas químicas vizinhas adjacentes a essas estruturas de carbonila (MATHESON; MCCOLLUM, 2014).

4.4.2 Análise por Cromatografia gasosa espectrometria de massas (CG/MS) da fração hexânica da resina *Myracrodruon urundeuva*.

O uso de espectrometria de massa (MS) é anterior ao desenvolvimento da ionização por eletrospray. A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG / MS) tem desempenhado um papel significativo na determinação quantitativa de drogas e metabólitos em fluidos biológicos e na identificação estrutural de metabólitos de drogas (COLE; JANISZEWSKI; FOUDA, 2002), como técnica espectroscópica foi inicialmente usada na análise química da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva* e nas misturas obtidas da fração hexânica RA H3, RA H 6 e F.

Uma vez obtidas as frações do extrato etanólico e tendo em conta que o maior rendimento foi da fração hexânica foi injetado no cromatógrafo gasoso para analisar e determinar os possíveis constituintes químicos conforme sugestões da biblioteca NIST do sistema, mostrando-se o perfil do cromatograma na Figura 30.

Figura 30– Cromatograma da fração hexânica da resina *M. urundeuva*

Fonte: MORENO, 2019

O resultado da sugestão com a base de dados NIST é mostrado na Tabela 23 onde foram encontrando 19 tempos de retenção no cromatograma, como possíveis substâncias. Analisados estes foi determinado por a sugestão da NIST como possíveis estruturas para os metabolitos da resina de *Myracrodruon urundeuva* os de tipo triterpênicos esteroidais e tipo cicloartanos esteroidais, núcleos tipo lanotanos, ergostano, lupano e colestanos, assim como também acil glicerol. A análise dos compostos propostos por NIST, (Tabela 23), o que é um indicativo da existência destes tipos de compostos na fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*. Tendo em conta que só foi possível encontrar por CG 19 compostos como sugestão da NIST e por análise de CCD tinha-se a suspeita de presença de mais metabolitos se decidiu utilizar a técnica de UPLC-DAD-QTOF-MS/MS. Hoje em dia é muito utilizada a espectrometria de massa em tandem de ionização por electrospray (UPLC-DAD-QTOF-MS/MS) como estratégia importante para a caracterização das substâncias podem então ajudar a determinar a composição de misturas complexas (DEMARQUE et al., 2016).

Tabela 23– Substâncias propostas por NIST da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*

Pico	Tr(min)	FM	M.+	% A	Proposta do composto	Prob (%)
1	21,39	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	330	4,58	2-Monopalmitin	75,8
2	26,28	C ₃₀ H ₅₀ O	426	0,33	Dihidroxicolest- 4 - en-6 – ona	15,3
3	27,78	C ₂₉ H ₄₈ O	412	0,28	Stigmasterol	14,5
4	27,89	C ₂₉ H ₄₈ O	412	3,11	14-Metilergosta-8,24(28) -dien-3-ol	58,5
5	28,00	C ₂₉ H ₄₈ O	412	0,30	Stigmasterol	25,8
6	28,16	C ₃₀ H ₅₀	410	1,00	1(10),9(11) -B-Homolanistadiene	10,8
7	28,39	C ₃₀ H ₅₀ O	426	10,0	Obtusifoliol	49,8
8	28,48	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	534	3,79	23-(Fenilsulfanil) lanosta-8,24-dien-3-ol	34,9
9	28,53	C ₂₉ H ₅₀ O	414	2,90	β-sitosterol	21,8
10	28,66	C ₃₂ H ₅₄ O ₂	470	2,70	9,19-Ciclolanostan-3-ol-24-acetato	14,0
11	28,72	C ₃₀ H ₅₀ O	426	0,81	Lanosterol	44,6
12	28,99	C ₃₀ H ₅₀ O	426	19,29	Cicloartenol	20,0
13	29,10	C ₃₀ H ₅₀ O	424	17,39	13,27-Cicloeursan-3-ona	20,1
14	29,20	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	468	23,44	acetato de cicloeucalenol	19,5
15	29,31	C ₃₀ H ₅₀ O	426	6,60	Cicloartenol	65,7
16	29,4	C ₃₀ H ₅₀ O	426	3,60	Lanosterol	45,2
17	29,59	C ₃₁ H ₅₀ O	438	13,82	24-metilenecicloartan-3-ona	64,8
18	29,69	C ₃₁ H ₅₂ O	440	3,98	9,19-Cyclolanostan-3-ol-24-metilene	60,7
19	30,17	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	442	3,05	Betulin	14,2

Fonte: MORENO, 2019

4.4.3 Análise por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*

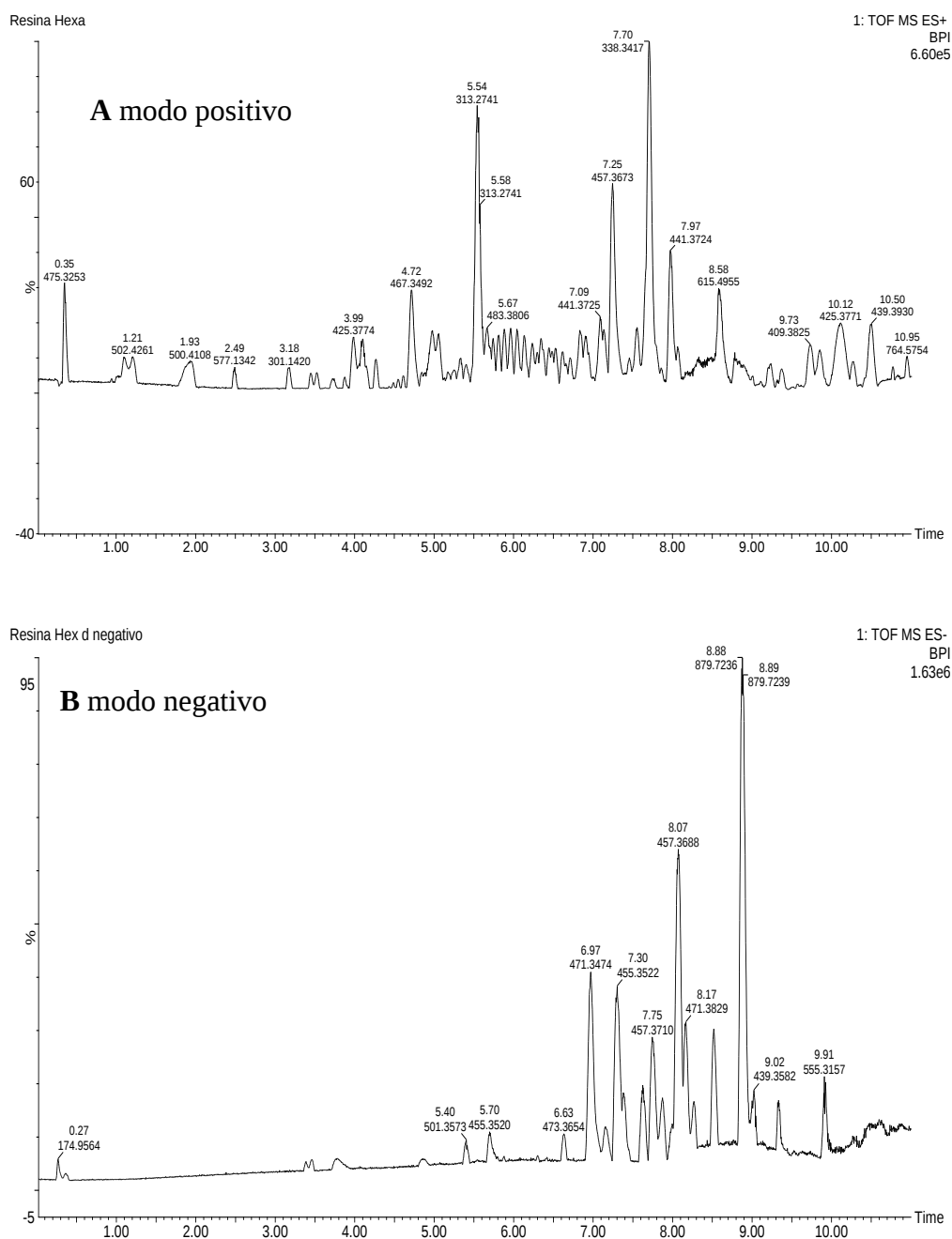
UPLC-DAD-QTOF-MS/MS é um método conveniente, porém mais sensível e necessário para avaliar a composição química, facilita a detecção de íons de fragmentação de precursores específicos, de modo que a elucidação estrutural é realizada com base nas regras de fragmentação. A análise por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS, da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva* nos modos negativo e positivo possibilitou a tentativa de identificação de 84 triterpenos que possa ser tenham núcleos tetracíclicos tipos cicloartano, dammarano, lanostano, ergostanos, lupano, colestano, e pentacíclicos ursano e olenano e confirmado por RMN que existe núcleo tipo cicloartano pelos sinais δ 0,33 e 0,55 (C-19). O ESI foi suficiente para a tentativa identificação nos dois modos. Estes compostos estão sendo

reportados como tentativa de identificação pela primeira vez na resina de *Myracrodruon urundeuva*.

No método LC-DAD o resultado da absorção no ultravioleta determinado, sugere que todas as substâncias propostas absorvem entre 224 e 226 nm o que pode-se sugerir que não encontra - se conjugação entre os grupos carbonílicos e carboxílicos com duplas ligações ou não existem vários grupos destes na estrutura e também não é provável encontrar conjugações entre duplas, quando comparado o UV com núcleos de triterpenos semelhantes a estes em *Ganoderma lucidum* reportando acima de 246 nm para triterpenos oxigenados com conjugação de dupla com carbonila e carboxila (YANG et al., 2007), como também análise de triterpenos oxigenados encontrados em *Antrodia cinnamomea* reportam acima de 242 nm para duplas conjugadas e carbonilas conjugadas com duplas ligações (QIAO et al., 2015).

Em geral, informações úteis foram obtidas nos dois modos, positivo e negativo. No modo positivo $[M + Na]^+$, $[M+K]^+$, $[M+NH_4]^+$ e $[M+ACN]^+$ foi sempre detectado como adutos Tabela 26 e $[M + H]^+$ detectada como a massa do composto ionizado (Tabela 24 e 26), os íons produtos MS / MS mais abundantes em espectros de polaridade positiva também detectados com intensidade $[M-CO_2]^+$, $[M-HCOOH]^+$ e $[M-nH_2O]^+$ com mais grupos hidroxila contidos em suas estruturas,. $[M-HCOOH]^-$, foi detectado como aduto. $[M-H]^-$ foi sempre detectado como a massa do composto ionizado no modo negativo, e os íons produtos MS/MS mais abundantes em espectros de massa negativos com intensidade foram $[M-HCO_2]^+$, $[M-HCOOH]^-$ e $[M-nH_2O]^-$ com mais grupos hidroxila contidos em suas estruturas, mostrados os íons produtos na Tabela 24 . É importante destacar que na falta de funcionalidades ácidas ou básicas fortes, os núcleos esteróideais tendem a exibir fracas respostas ESI-MS (RANNULU; COLE, 2012). Na Figura 31 é mostrado os cromatogramas como resultado da injeção no UPLC-DAD-QTOF-MS/MS da fração hexânica no modo positivo e negativo.

Figura 31– Cromatogramas dos íons totais UPLC-DAD-QTOF-MS/MS da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*, modo positivo A, negativo B



Fonte: MORENO, 2019

4.4.3.1 UPLC-ESI-MS MS² modo positivo

A adequação da polaridade positiva para determinar os metabólitos da resina de *Myracrodruon urundeuva* foi avaliada, encontrando, por exemplo, que o LC-ESI-MS (+) (Figura 31. A), foi a escolha mais eficiente para ionizar (como segue) ácidos triterpênicos pentacíclicos e tetracíclicos (16), triterpenos mono, di e trihidroxilados (32), éster hidroxilados (2) e um possível ácido graxo como tentativa de identificação.

Neste modo foi possível ver as informações úteis observadas nos espectros dos compostos que foram predominantemente adutos de sódio com carga individual das moléculas e atribuídos a $[M + H]^+$, $[2M + H]$, $[M+ACN+H]^+$, $[M + Na]^+$ e $[M+K]^+$ (Tabela 26) como também foi encontrado alguns neste modo (GACHUMI; EL-ANEED, 2017). Além da eliminação de H₂O e nH_2O observou-se fragmentos de íons produtos com a perda de CO₂ e HCO₂H (AF) como mostrado na Tabela 24 como rotas de descarboxilação para ácidos triterpênicos de uma função carboxílica na ESI-MS/MS, demonstrado em estudos anteriores (LACIKOVA et al., 2006; LIU et al., 2011).

Para este modo foi possível ver tempo de retenção 1,10 e 1,20 $[M + H]$ m/z 485,3989 gerando íons m/z 442,4052, perda de $[M+H-CH_3CO]^+$ e m/z 425,3812 $[M+H-CH_3CO_2H]^+$ para perda do acetato, e para íons produtos rota de fragmentação de forma geral para os tempos de retenção 3,45, 3,53, 3,70, 3,82 e 4,00 $[M + H]$ m/z 521,3837 para ácido triterpênico tetrahidroxilado com perda de H₂O m/z 503,3633, 457,3676, 439,3574 e 421,3682 e descarboxilação gerando o íon m/z 475,3841, como também observou-se rota de fragmentação de forma geral para ácidos triterpênicos hidroxilado $[M + H]$ m/z 457,3676, sendo primeiro a perda de H₂O m/z 439,3640 com posterior descarboxilação (CO₂) gerando o íon produto m/z 395,2999 e perda de (H₂O) m/z 439,3640 com posterior desprotonação por ligações de hidrogênio da carboxila formado ácido fórmico (AF) e saindo 46 Da, gerando o pico do fragmento do íon produto 393,3318. Outra rota visualizada nos espectros para os triterpenos ácidos $[M + H]$ m/z 457,3676 foi sendo primeiro a descarboxilação (CO₂) gerando o íon produto m/z 413,3736 com posterior desidratação (H₂O) gerando o íon produto 395,2999 e perda de (AF) por desprotonação por ligações de hidrogênio da carboxila gerando o íon produto 411,3527 com posterior desidratação (H₂O) gerando o íon produto 393,3318. O tempo de retenção 6,92 $[M + H]^+$, m/z 473,3625 com os fragmentos íons produtos m/z 455,3522, 437,3607, 427,3569 e 409,3484 pode ser explicado pela saída de H₂O e HCO₂H e sugerido como ácido masliníco tendo um comportamento de fragmentação mesmo igual ao reportado (GENG et al., 2014).

Fragmentos semelhantes no ESI neste modo foi encontrado para triterpenos ácidos hidroxilados (GENG et al., 2014; JIN et al., 2018; LACIKOVA et al., 2006). Nos compostos que contém o 9,19-cyclopropano que foi demonstrado por RMN, é possível seja encontrado na forma carboxílica, não foi possível fazer a diferencia com os núcleos tipo oleanano e ursano carboxilados porque esses núcleos tem fragmentações íons produtos m/z 177, 191, 203, 217 iguais, o núcleo cicloartano pela presença do anel 9-19 ciclopropano e os núcleos oleanano e ursano por retro Dies- Alder, como foi descrito (MO et al., 2013; NAUMOSKA; VOVK, 2015) mesmo usando ionização a pressão atmosférica (APCI), que foram pouco intensos mas também observados em ESI nos espectros.

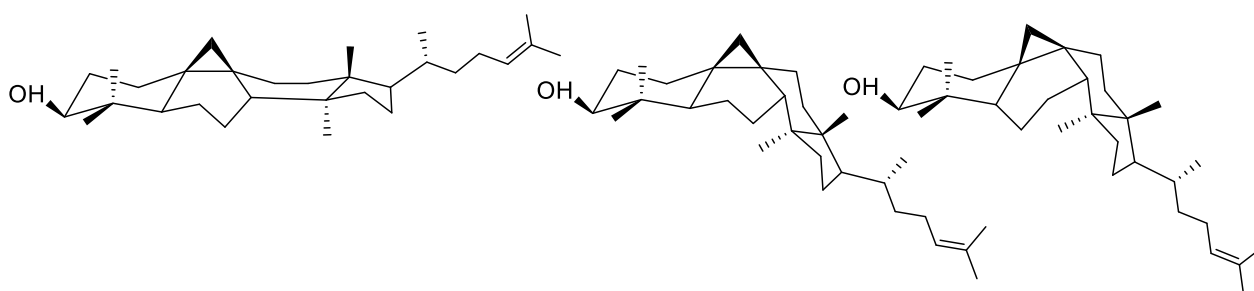
O tempo de retenção (Tr) 4,12 [M + H] m/z 285,2424 é sugerido como tentativa de identificação um ácido graxo e (Tr) 5,30 [M + H] m/z 331,2843 sugere-se seja um acilglicerol que possa ser o 2-monopalmitin, sendo que o (tr) 5,58 com [M + H] m/z 331,2843 é sugerido seja o 1-monopalmitin que foi elucidado por RMN.

No entanto, triterpenos com hidroxila e *n*-hidroxilas foram os mais encontrados neste método por ter a capacidade de protonarse facilmente com perda de água e consequente perdas de água. O tempo de retenção 4,27 [M + H]⁺, m/z 461,3989 gerou íon produtos com perdas de água m/z 443,3884; 425,3791 e 407,3096, o tempo de retenção 4,75 [M + H]⁺, m/z 445,3676 gerou íons produtos com consequente perda de água m/z 427,3582; 409,3466 e 391,3523. Os tempos de retenção 4,85, 4,98 e 5,08 [M + H]⁺, m/z 459,3833 tiveram desidratação consequentemente gerando íons produtos m/z 441,3744, 423,2449 e 405,3559. De forma geral os tempos de retenção de [M + H]⁺, m/z 443,3884 também teve perdas de água gerando íons produtos m/z 425,3791 e 407,3779, como também aconteceu com os tempos de retenção de [M + H]⁺, m/z 441,3727 que gerou íons produtos m/z 423,3625 e 405,3524. Para o tempo de retenção 10,5 [M + H]⁺, m/z 439,3934 foi desidratado gerando o íon produto 421,3843 como aconteceu de forma geral com todos os tempos de retenção para [M + H]⁺, m/z 425,3778 que teve a desidratação gerando o íon produto m/z 407,3680. Assim também foi para os tempos de retenção [M + H]⁺, m/z 427,3934 que foi desidratado gerando o íon produto m/z 409,3849 compostos estes que foram elucidados por RMN. Tempos de retenção 9,21 [M + H]⁺, m/z 431,3534 gerou íons produtos m/z 413,3778 e 395,3734 por perda de água, tempo de retenção 10,20 [M + H]⁺, m/z 413,3778 geraram o íon produto m/z 395,3734 e o tempo de retenção 9,38 [M + H]⁺, m/z 411,3621 teve a perda de água com íon produto m/z 393,3527, todos os íons produtos deste modo são mostrado na Tabela 24.

Possíveis conformações de mínima energia do cicloartenol investigada por RMN e mecânica molecular é representada Figura 32 segundo (MILON et al., 1989), pelo que

triterpenos presentes na fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*, que contém o 9,19-cyclopropano, quebras podem acontecer no anel C, que geraria íons produtos m/z 177, 191, 203, 207 semelhantes a íons gerados por núcleos oleanano e ursano por retro Diels- Alder. Nos espectros de massas foram encontrados fragmentos m/z 177, 191, 203, 217 semelhante ao descrito por (NAUMOSKA; VOVK, 2015) aplicando a LCQ íon trap, o que é possível encontrar o núcleo 9,19-cyclopropano com oxidação carboxílica pelo que sua existência hidroxílica foi demonstrada por RMN.

Figura 32– Possíveis conformações de cicloartenol segundo MILON et al., 1989



Fonte: MORENO, 2019

4.4.3.2 UPLC-ESI-MS MS² modo negativo

Neste modo foi possível ver as informações úteis (Figura 31. B), observadas nos espectros dos compostos que foram predominantemente adutos $[M + HCOOH]^-$, $[M+Na-2H]^-$ e Tabela 25, íons desprotonados $[M - H]^-$ foram observados (Tabela 24 e 25), o que forneceu a massa molecular exata e fórmula na base de dados. O modo ESI negativo foi considerado sensível para ácidos triterpenos e a rota de fragmentação dominante de forma geral dos espectros dos compostos observados são perdas de H_2O , $HCOOH$ e HCO_2 , (Tabela 24); coincidindo com o descrito (JIN et al., 2018; SANDJO et al., 2017; YANG et al., 2007), como rotas de descarboxilação e desidratação para ácidos triterpenos hidroxilados de uma função carboxílica e hidroxílica no ESI-MS/MS.

Nos tempos de retenção 3,45; 3,53; 3,70; 3,82 e 4,0 observou-se $[M - H]^-$ m/z 519,3691 para triterpenos ácido tetrahidroxilado tendo desidratação gerando íons produto m/z 501,3204 e descarboxilação m/z 473,3652, já nos tempos de retenção 4,37; 5,00 e 5,10 observou-se $[M - H]^-$ m/z 471,3480 tendo desidratação gerando o íon produto m/z 452,9233 e 407,1892 e descarboxilação m/z 425,3209, já no tempo de retenção 4,96 $[M - H]^-$ m/z 469,3323 observou-

se perda de H₂O 451,2825 e 405,8612 com descarboxilação m/z 423,2449 e tempos de retenção $[M - H]^-$ m/z 455,3531 foi possível ver, sendo primeiro a perda de H₂O m/z 437,3149 com posterior descarboxilação (HCO₂) gerando o íon produto m/z 393,1735, ou primeiro descarboxilação m/z 410,8606 (HCO₂), já para os tempos de retenção 8,12 e 8,52 triterpenos ácido hidroxilado $[M - H]^-$ m/z 469,3607 observou-se descarboxilação com desprotonação por ligações de hidrogênio da carboxila formado ácido fórmico (AF) e saindo 46 Da, gerando o pico do fragmento do íon produto como HCOOH m/z 423,3462 e perda de H₂O m/z 451,3640 e 403,3055.

Nos tempos de retenção 7,90 e 7,98 $[M - H]^-$ m/z 457,3687 foi possível observar desidratação m/z 439,3404 com posterior descarboxilação gerando íon produto 395,3692 para ácidos triterpenos e tempos de retenção 8,26 e 8,40 observou-se $[M - H]^-$ m/z 457,3687 também, com desidratação (nH_2O) consecutiva gerando o íons produto m/z 439,4002; 421,9651 e 403,3055 pra triterpenos n -hidroxilados e tempos de retenção 8,87 até 9,66 também foi possível ver as informações por desidratação dos terpenos, o que terpenos com mais de uma hidroxila na sua estrutura foram possível serem ionizados no modo negativo pelo acrescentamento de sua polaridade.

No tempo de retenção 8,87 e 9,02 com $[M-H]^-$ m/z 439,3581 foram visualizados fragmentos íons produtos consecutivo por desidratação gerando íons m/z 421,9651 e $[M - 2H]$ 402,3126, já para o tempo de retenção 9,23 $[M-H]^-$ m/z 499,3795 um possível ácido triterpenos acetato a sua fragmentação gerou íons produto de descarboxilação $[M-H-HCO_2H]^-$ m/z 453,3740 e perda do acetato $[M-H-CH_3CO_2H]^-$ m/z 439,3620. Nos tempos de retenção 9,32, 9,41 e 9,66 $[M-H]^-$ m/z 441,3738 também foi possível ver as informações por desidratação gerando íons produtos m/z 423,3724 e 405,01

Tabela 24– Proposta de identificação das substâncias da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*, UPLC-DAD-QTOF-MS/MS
[M+H]⁺ e [M-H]⁻ e [M+H]⁺ + (PARTE I)

P	Tr	(m/z) [M+H] ⁺ /[M-H] ⁻	Calculado	[M+H-H ₂ O] ⁺ / [M-H-H ₂ O] ⁻	[M+H-HCO ₂ H] ⁺ / [M-H-HCO ₂ H] ⁻	[M+H-CH ₃ CO] ⁺ / [M-H-CH ₃ CO] ⁻	[M+H-CH ₃ CO ₂ H] ⁺ / [M-H-CH ₃ CO ₂ H] ⁻	[M+H-CO ₂] ⁺ / [M-H-CO ₂] ⁻	[M+H-CO ₂ H] ⁺ / [M-H-CO ₂ H] ⁻
1	1,1	485,3983/ND	485,3989/ND			442,4052/ND	425,3812/ND		
2	1,2	485,3987/ND	485,3989/ND			442,4052/ND	425,3812/ND		
3	1,93	457,3676/ND	457,3676/ND	439,3568					
4	3,45	521,3835/519,3690	521,3837/519,3691	503,3633/501,3204	475,3841/473,3652				
5	3,55	521,3835/519,3690	521,3837/519,3691	503,3633/501,3215	475,3841/73,3609				
6	3,7	521,3835/519,3693	521,3837/519,3691	503,3633/501,3215	475,3841/473,3624				
7	3,73	443,3885/ND	443,3883/ND	425,3791					
8	3,82	521,3835/519,3691	521,3837/519,3691	503,3633/501,3215	475,3841/473,3613				
9	4	521,3835/519,3689	521,3837/519,3691	503,3633/501,3215	475,3841/473,3600				
11	4,06	443,3880/ND	443,3884/ND	425,3773					
12	4,12	285,2420/ND	285,2424						
13	4,27	461,3987	461,3989	443,3884					
14	4,37	ND/471,3480	ND/471,3480	452,9233	ND/425,32095				
15	4,5	ND/475,3790	ND/475,3793	ND/457,3373					
16	4,73	ND/475,3790	ND/475,3793	ND/457,3373					
17	4,75	445,3677/ND	445,3676/ND	427,3582					
18	4,85	459,3838/ND	459,3833/ND	441,3744					
19	4,96	ND/469,3326	ND/469,3323	451,2825	423,2449				

20	4,98	459,3838/ND	459,3833/ND	441,3744		
21	5	ND/471,3480	ND/471,3480	452,9233	ND/425,32095	
22	5,08	459,3838/ND	459,3833/ND	441,3744		
23	5,1	ND/471,3480	ND/471,3480	452,9233	ND/425,32095	
24	5,3	331,2841/ND	331,2843/ND	313,2737		ND/410,8606
25	5,4	ND/455,3533	ND/455,3531	437,3149		ND/410,8599
26	5,44	ND/455,3535	ND/455,3531	437,3146		ND/410,8599
27	5,53	ND/455,3530	ND/455,3531	437,3148		
28	5,58	331,2845/ND	331,2843/ND	313,2738		413,3736/ND ND/410,8609
29	5,69	457,3670/455,3535	457,3676/455,3531	439,3568/437,3204	411,4148/ND	ND/410,8609
30	5,78	ND/455,3531	ND/455,3531	437,3204		
31	5,8	425,3780/ND	425,3778/ND	407,3673		
32	5,87	425,3789/ND	425,3778/ND	407,369		ND/410,8609
33	5,9	ND/455,3530	ND/455,3531	437,4347		ND/410,8616
34	5,95	ND/455,3534	ND/455,3531	437,3253		
35	5,97	425,3774/ND	425,3778/ND	407,3673		
36	6	425,3779/ND	425,3778/ND	407,368		ND/410,8627
37	6,05	ND/455,3538	ND/455,3531	437,333		
38	6,15	ND/425,3781	ND/425,3778	407,369		ND/410,8624
39	6,19	ND/455,3533	ND/455,3531	437,3316		
40	6,23	425,3770/ND	425,3778/ND	407,3677		413,3372/ND ND/410,8613
41	6,35	457,3679/455,3535	457,3676/455,3531	439,3595/437,3334	411,3642/ND	413,3304/ND ND/410,8613

42	6,45	457,3677/455,3535	457,3676/455,3531	439,3574/437,3335	411,3631/ND	413,3795/ND	ND/410,8614
43	6,54	457,3680/455,3533	457,3676/455,3531	439,3574/437,2992	411,3650/ND	413,3456/ND	ND/410,8614
44	6,63	457,3679/455,3533	457,3676/455,3531	439,3581/437,3032	411,3628/ND	413,3151/ND	ND/410,8617
45	6,75	457,3681/455,3538	457,3676/455,3531	439,3575/437,3144	411,3623/ND		
46	6,83	425,3775/ND	425,3778/ND	407,3674			
47	6,88	441,3727/ND	441,3727/ND	423,3619			
48	6,92	473,3629/ND	473,3625/ND	455,3522	427,3569		ND/410,8593
49	6,96	ND/455,3530	ND/455,3531	ND/437,3279			
50	7,08	441,3723/ND	441,3727/ND	423,3628			
51	7,12	425,3775/ND	425,3778/ND	407,3682			ND/410,8598
52	7,14	ND/455,3536	ND/455,3531	437,3305			ND/410,8606
53	7,26	457,3672/455,3531	457,3676/455,3531	439,3571/437,3221	411,3629/ND		ND/410,8603
54	7,45	457,3679/455,3533	457,3676/455,3531	439,3581/437,3178	411,3620/ND		ND/410,8609
55	7,55	457,3670/455,3531	457,3676/455,3531	439,3564/437,3210	411,3625/ND		
56	7,73	441,3722/ND	441,3727/ND	423,3634			410,8609
57	7,78	ND/455,3530	ND/455,3531	437,3121			
58	7,87	441,3721/ND	441,3727/ND	423,3713			
59	7,9	ND/457,3687	ND/457,3687	439,3404			
60	7,98	ND/457,3685	ND/457,3687	439,3351			
61	8	441,3721/ND	441,3727/ND	423,3713			
62	8,12	ND/469,3689	ND/469,3687	451,3397	423,3462		
63	8,26	ND/457,3687	ND/457,3687	439,4002			

64	8,4	ND/457,3687	ND/457,3687	439,4002		
65	8,52	ND/469,3684	ND/469,3687	451,3384	423,3455	
66	8,65	443,3880/ND	443,3884/ND	425,3783		
67	8,8	441,3729/ND	441,3727/ND	423,3883		
68	8,87	ND/439,3582	ND/439,3581	421,9651		
69	9,02	ND/439,3584	ND/439,3581	421,9626		
70	9,21	431,3534/ND	431,3531/ND	413,3778		
71	9,23	ND/499,3795	ND/499,3793		453,374	439,362
72	9,29	469,4046/ND	469,4040/ND	451,3397	425,3812	409,389
73	9,32	443,3883/441,3738	443,3883/441,3738	425,3843/423,3724		
74	9,38	411,3623/ND	411,3621/ND	393,3527		
75	9,41	ND/441,3738	ND/441,3738	423,3724		
76	9,66	ND/441,3738	ND/441,3738	423,3724		
77	9,72	427,3932/ND	ND/427,3934	409,3829		
78	9,8	427,3932/ND	427,3934	409,3829		
79	9,84	427,3930/ND	427,3934	409,3824		
80	9,9	427,3930/ND	427,3934	409,3824		
81	10	425,3777/ND	425,3778	407,379		
82	10,2	413,3777/ND	413,3778	395,3734		
83	10,4	441,4089/ND	441,4091	423,3981		
84	10,5	439,3931/ND	439,3934	421,3843		

Tabela 24- Proposta de identificação das substâncias da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*. UPLC-DAD-QTOF-MS/MS[M+H]⁺) [M-H]⁻) e [M+H]⁺ (PARTE II)

P	Tr	(m/z) [M+H] ⁺ / [M-H] ⁻	[M+H-H ₂ O] ⁺ / [M-H-H ₂ O] ⁻	[M+H-H ₂ O] ⁺ / [M-H-H ₂ O] ⁻	[M+H-H ₂ O] ⁺ / [M-H-H ₂ O] ⁻	[M+H-CO ₂ -H ₂ O] ⁺ / [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻	[M+H-HCO ₂ H-H ₂ O] ⁺ / [M+H-HCO ₂ H-H ₂ O] ⁻	[M+H-H ₂ O] ⁺ / [M-H-H ₂ O] ⁻	Tentativa de identificação
1	1,1	485,3983/ND							Acetato-hidroxi-triterpeno
2	1,2	485,3987/ND							Acetato-hidroxi-triterpeno
3	1,93	457,3676/ND	457,3676/455,3282	439,3574/ND	421,3662/ND				Ácido-hidroxi-triterpeno
4	3,45	521,3835/519,3690	457,3676/455,3280	439,3575/ND	421,3339/ND				Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
5	3,55	521,3835/519,3690	457,3676/	439,3575	421,3339				Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
6	3,7	521,3835/519,3693	407,3779						Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
7	3,73	443,3885/ND	457,3676/455,3287	439,3575/ND	421,3339/ND				Dihidroxi-triterpeno
8	3,82	521,3835/519,3691	457,3676/455,3285	439,3575/ND	421,3339/ND				Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
9	4	521,3835/519,3689	407,3684						Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
11	4,06	443,3880/ND							Dihidroxi-triterpeno
12	4,12	285,2420/ND	425,3791					407,3096	Ácido graxo insaturado
13	4,27	461,3987	ND/407,1892			ND/410,8609			Trihidroxi-triterpeno
14	4,37	ND/471,3480	ND/439,8897	ND/421,2368	ND/403,8402				Ácido-dihidroxi-triterpeno
15	4,5	ND/475,3790	ND/439,8897	ND/421,2368	ND/403,8402				Tetrahidroxi-triterpeno
16	4,73	ND/475,3790	409,3466					391,3523	Tetrahidroxi-triterpeno
17	4,75	445,3677/ND	423,2449	405,3559					Trihidroxi-triterpeno
18	4,85	459,3838/ND	405,8612						Trihidroxi-triterpeno
19	4,96	ND/469,3326	423,3625	405,3524					Ácido-dihidroxi-triterpeno
20	4,98	459,3838/ND	407,1892			410,8609			Trihidroxi triterpeno
21	5	ND/471,3480	423,3622	405,3559					Ácido-dihidroxi-triterpeno

22	5,08	459,3838/ND	407,1892	410,8609		Trihidroxi-triterpeno
23	5,1	ND/471,3480				Ácido-dihidroxi-triterpeno
24	5,3	331,2841/ND		393,1735		1-Monopalmitin
25	5,4	ND/455,3533		393,1721		Ácido-hidroxi-triterpeno
26	5,44	ND/455,3535		393,1744		Ácido-hidroxi-triterpeno
27	5,53	ND/455,3530				Ácido-hidroxi-triterpeno
28	5,58	331,2845/ND		395,3502/393,1741	393,3641/ND	Acilglicerol
29	5,69	457,3670/455,3535		393,1753		Ácido-hidroxi-triterpeno
30	5,78	ND/455,3531				Ácido-hidroxi-triterpeno
31	5,8	425,3780/ND				Hidroxi-triterpeno
32	5,87	425,3789/ND		393,1701		Hidroxi-triterpeno
33	5,9	ND/455,3530		393,1718		Ácido-hidroxi-triterpeno
34	5,95	ND/455,3534				Ácido-hidroxi-triterpeno
35	5,97	425,3774/ND				Hidroxi-triterpeno
36	6	425,3779/ND		393,1688		Hidroxi-triterpeno
37	6,05	ND/455,3538				Ácido-hidroxi-triterpeno
38	6,15	ND/425,3781		393,1736		Hidroxi-triterpeno
39	6,19	ND/455,3533				Ácido-hidroxi-triterpeno
40	6,23	425,3770/ND		395,2246/393,3071	393,3451/ND	Hidroxi-triterpeno
41	6,35	457,3679/455,3535		395,2273/393,3075	393,3486/ND	Ácido-hidroxi-triterpeno
42	6,45	457,3677/455,3535		395,3688/393,3050	393,3452/ND	Ácido-hidroxi-triterpeno
43	6,54	457,3680/455,3533		395,2823/393,3050	393,3468/ND	Ácido-hidroxi-triterpeno
44	6,63	457,3679/455,3533		395,2916/393,9067	393,3533/ND	Ácido-hidroxi-triterpeno
45	6,75	457,3681/455,3538				Ácido-hidroxi-triterpeno
46	6,83	425,3775/ND	405,3527			Hidroxi-triterpeno
47	6,88	441,3727/ND	437,3607	393,3515		Dihidroxi-triterpeno

48	6,92	473,3629/ND			ND/393,3050	Ácido-dihidroxi-triterpeno
49	6,96	ND/455,3530	405,3655			Ácido-hidroxi-triterpeno
50	7,08	441,3723/ND				Dihidroxi-triterpeno
51	7,12	425,3775/ND			ND/393,3564	Hidroxi-triterpeno
52	7,14	ND/455,3536			395,3639/393,3015	393,2652/ND
53	7,26	457,3672/455,3531			395,3659/393,2987	393,3493/ND
54	7,45	457,3679/455,3533			395,3681/393,3169	393,3533/ND
55	7,55	457,3670/455,3531	405,3772			Ácido-hidroxi-triterpeno
56	7,73	441,3722/ND			393,2927	Hidroxi-triterpeno
57	7,78	ND/455,3530	405,3655			Ácido-hidroxi-triterpeno
58	7,87	441,3721/ND			395,3692	Dihidroxi triterpeno
59	7,9	ND/457,3687			395,3692	Ácido-hidroxi-triterpeno
60	7,98	ND/457,3685	405,3659			Ácido-hidroxi-triterpeno
61	8	441,3721/ND				Dihidroxi-triterpeno
62	8,12	ND/469,3689	421,9651	403,3055		Ácido-hidroxi-triterpeno
63	8,26	ND/457,3687	421,9651	403,3059		Tridroxi-triterpeno
64	8,4	ND/457,3687				Tridroxi-triterpeno
65	8,52	ND/469,3684	407,3705			Ácido-hidroxi-triterpeno
66	8,65	443,3880/ND	405,3457			Dihidroxi-triterpeno
67	8,8	441,3729/ND	402,3126			Dihidroxi-triterpeno
68	8,87	ND/439,3582	402,3106			Dihidroxi-triterpeno
69	9,02	ND/439,3584	395,3681			Dihidroxi-triterpeno
70	9,21	431,3534/ND				Tridroxi-triterpeno
71	9,23	ND/499,3795				Acetato-ácido-triterpeno
72	9,29	469,4046/ND	407,3705/405,0110			Acetato-triterpeno
73	9,32	443,3883/441,3738				Dihidroxi-triterpeno

74	9,38	411,3623/ND	405,1026	Hidroxi-triterpeno
75	9,41	ND/441,3738	405,1038	Dihidroxi-triterpeno
76	9,66	ND/441,3738		Dihidroxi-triterpeno
77	9,72	427,3932/ND		Cicloartenol
78	9,8	427,3932/ND		Obtusifoliol
79	9,84	427,3930/ND		Butirospermol
80	9,9	427,3930/ND		Cicloeucaenol
81	10	425,3777/ND		Hidroxi-triterpeno
82	10,2	413,3777/ND		Hidroxi-triterpeno
83	10,4	441,4089/ND		24-metilen-cicloartanol
84	10,5	439,3931/ND		Hidroxi-triterpeno

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 25– Proposta de identificação das substâncias da fração hexânica com adutos da resina de *Myracrodruon urundeuva*, UPLC-DAD-QTOF-MS/MS [M-H]⁻

P	Tr	[M-H] ⁻ (m/z) exp/calc	[M-H+HCOOH] ⁻ exp/calc	[M+Na-2H] ⁻ exp/calc	Tentativa de identificação
1	3,55	519,3690/519,3691		541,3515/541,3511	Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
2	3,64	519,3690/519,3691		541,3510/541,3511	Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
3	3,82	519,3690/519,3691		541,3513/541,3511	Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
4	4,03	519,3690/519,3691		541,3515/541,3511	Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
5	4,27	519,3690/519,3691		541,3517/541,3511	Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
6	4,37	471,3480/471,3480	517,3533/517,3535		Ácido-dihidroxi-triterpeno
7	4,50	475,3790/475,3793	521,3845/521,3848		Tetrahidroxitriterpeno
8	4,73	475,3790/475,3793	521,3845/521,3848		Tetrahidroxitriterpeno
9	4,94	469,3326/469,3323			Ácido-dihidroxi-triterpeno
10	5,00	471,3480/471,3480	517,3534/517,3535		Ácido-dihidroxi-triterpeno
11	5,10	471,3480/471,3480	517,3537/517,3535		Ácido-dihidroxi-triterpeno
12	5,40	455,3533/455,3531	501,3582/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
13	5,44	455,3535/455,3531	501,3585/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
14	5,53	455,3530/455,3531	501,3585/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
15	5,69	455,3535/455,3531	501,3582/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
16	5,80	455,3531/455,3531	501,3582/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
17	5,90	455,3530/455,3531	501,3584/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
18	5,97	455,3534/455,3531	501,3584/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
19	6,05	455,3538/455,3531	501,3583/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
20	6,19	455,3533/455,3531	501,3585/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
21	6,45	455,3535/455,3531	501,3585/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
22	6,60	455,3533/455,3531	501,3583/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
23	6,75	455,3538/455,3531	501,3588/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
24	6,96	455,3530/455,3531	501,3585/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
25	7,14	455,3536/455,3531	501,3589/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
26	7,30	455,3531/455,3531	501,3585/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
27	7,45	455,3533/455,3531	501,3586/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
28	7,62	455,3531/455,3531	501,3583/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
29	7,78	455,3530/ 455,3531	501,3583/501,3585		Ácido-hidroxi-triterpeno
30	7,90	457,3687/457,3687	503,3742/503,3742		Ácido-hidroxi-triterpeno
31	8,00	457,3685/457,3687	503,3741/503,3742		Ácido-hidroxi-triterpeno
32	8,12	469,3689/469,3687	515,3746/515,3742		Tridroxi-triterpeno
33	8,26	457,3687/457,3687	503,3740/503,3742		Ácido-hidroxi-triterpeno
34	8,40	457,3687/457,3687	503,3742/503,3742		Ácido-hidroxi-triterpeno
35	8,52	469,3684/469,3687	515,3743/515,3742		Didroxi-triterpeno
36	8,87	439,3582/439,3581	485,3636/485,3636		Didroxi-triterpeno
37	9,02	439,3584/439,3581	485,3637/485,3636		Didroxi-triterpeno
38	9,23	499,3795/499,3793		521,3618/521,3612	Acetato ácido triterpeno
39	9,32	441,3738/441,3738	487,3790/ 487,3793		Didroxi-triterpeno
40	9,41	441,3738/441,3738	487,3795/ 487,3793		Didroxi-triterpeno
41	9,66	441,3738/441,3738	487,3798/ 487,3793		Didroxi-triterpeno

exp/calc= experimental/calculada

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 26– Proposta de identificação das substâncias da fração hexânica com adutos da resina de *Myracrodruon urundeuva*, UPLC-DAD-QTOF-MS/MS [M+H]⁺

P	Tr	[M+H] ⁺ , (m/z) experimental/calculada	[M+NH4] ⁺ experimental/calculada	[M+ACN+H] ⁺ experimental/calculada	[M+K] ⁺ experimental/calculada	[M+Na] ⁺ experimental/calculada	Tentativa de identificação
1	1,10	485,3983/485,3989	502,4260/502,4255				Acetato-hidroxi-triterpeno
2	1,20	485,3987/485,3989	502,4258/502,4255				Acetato-hidroxi-triterpeno
3	1,93	457,3676/457,3676		500,4103/500,4098			Ácido-hidroxi-triterpeno
4	3,45	521,3835/521,3837			559,3390/ 559,3395		Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
5	3,55	521,3835/521,3837			559,3395/ 559,3395		Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
6	3,70	521,3835/521,3837			559,3395/ 559,3395		Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
7	3,73	443,3885/443,3883					dihidroxi triterpeno
8	3,82	521,3835/521,3837			559,3395/ 559,3395		Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
9	4,00	521,3835/521,3837			559,3395/ 559,3395		Ácido-tetrahidroxi-triterpeno
10	4,00	443,3880/443,3884					Dihidroxi triterpeno
11	4,12	285,2420/285,2424					Ácido-graxo-insaturado
12	4,27	461,3987/461,3989					Trihidroxi-triterpeno
13	4,75	445,3677/445,3676				467,3496/ 467,3496	Trihidroxi-triterpeno
14	4,85	459,3838/459,3833					Trihidroxi-triterpeno
15	4,98	459,3838/459,3833					Trihidroxi-triterpeno
16	5,08	459,3838/459,3833					Trihidroxi-triterpeno
17	5,30	331,2841/331,2843				353,2663/ 353,2662	1-Monopalmitin
18	5,58	331,2845/331,2843				353,2665/ 353,2662	Acilglicerol
19	5,69	457,3670/457,3676					Ácido-hidroxi-triterpeno
20	5,80	425,3780/425,3778					Hidroxi-triterpeno
21	5,87	425,3789/425,3778					Hidroxi-triterpeno
22	5,97	425,3774/425,3778					Hidroxi-triterpeno
23	6,05	425,3779/425,3778					Hidroxi-triterpeno
24	6,15	425,3781/425,3778					Hidroxi-triterpeno
25	6,23	425,3770/425,3778					Hidroxi-triterpeno
26	6,35	457,3679/457,3676					Ácido-hidroxi-triterpeno
27	6,45	457,3677/457,3676					Ácido-hidroxi-triterpeno
28	6,54	457,3680/457,3676					Ácido-hidroxi-triterpeno
29	6,63	457,3679/457,3676					Ácido-hidroxi-triterpeno
30	6,75	457,3681/457,3676					Ácido-hidroxi-triterpeno
31	6,83	425,3775/425,3778					Hidroxi-triterpeno
32	6,88	441,3727/441,3727					Dihidroxi-triterpeno

33	6,92	473,3629/473,3625		Ácido-dihidroxi-triterpeno
34	7,08	441,3723/441,3727		Dihidroxi-triterpeno
35	7,12	425,3775/425,3778		Hidroxi-triterpeno
36	7,26	457,3672/457,3676	479,3495/ 479,3496	Ácido-hidroxi-triterpeno
37	7,45	457,3679/457,3676	479,3495/ 479,3496	Ácido-hidroxi-triterpeno
38	7,55	457,3670/457,3676	479,3495/ 479,3496	Ácido-hidroxi-triterpeno
39	7,73	441,3722/441,3727		Hidroxi-triterpeno
40	7,90	441,3721/441,3727		Dihidroxi-triterpeno
41	8,00	441,3721/441,3727		Dihidroxi-triterpeno
42	8,65	443,3880/443,3884		Dihidroxi-triterpeno
43	8,80	441,3729/441,3727		Dihidroxi-triterpeno
44	9,21	413,3778/413,3778		Dihidroxi-triterpeno
45	9,29	469,4046/469,4040		Acetato-triterpeno
46	9,32	443,3883/443,3883		Dihidroxi-triterpeno
47	9,38	411,3623/411,3621		Hidroxi-triterpeno
48	9,72	427,3932/427,3934	468,4208/468,4200	Cicloartenol
49	9,80	427,3932/427,3934		Obtusifoliol
50	9,84	427,3930/427,3934	468,4208/468,4200	Butirospermol
51	9,90	427,3930/427,3934		Cicloeucalemol
52	10,0	425,3777/425,3778		Hidroxi-triterpeno
53	10,2	413,3777/413,3778		Hidroxi-triterpeno
54	10,4	441,4089/441,4091		24-metilen-cicloartanol
55	10,5	439,3931/439,3934		Hidroxi-triterpeno

Fonte: MORENO, 2019

Uma revisão da família Anacardiaceae, que trata a presença de metabólitos secundários nos principais gêneros dessa família relata a ocorrência de diferentes compostos naturais presentes em suas espécies, triterpenos e esteroides são metabólitos típicos desta família. No entanto, os terpenóides, principalmente os triterpenos, são as substâncias mais representativas do gênero *Mangifera*. De *M. indica* foram obtidos triterpenos de esqueletos cicloartano, dammarano, taraxastano e hopano. que indica que a família Anacardiaceae biosintetiza este tipo de metabolitos como os encontrados na resina de *Myracrodruon urundeuva* por RMN (cicloartano, ergostano), que estão sendo propostos como tentativa de identificação semelhante aos encontrados em toda a família e no gênero *Mangifera* (CORREIA; DAVID; DAVID, 2006).

Seis triterpenóides derivados do cicloartano, ácido isomangiferólico, ácido mangiferólico, ácido mangiferônico, 24-metileno-cicloartano-3 β ,26-diol, ácido ambólico e ácido ambônico, foram relatados, e anteriormente isolados em cascas do caule de *Mangifera indica*, considerado a presença destas substâncias nas amostras da própolis, que de fato a própolis apresentou uma composição similar à dos exsudatos de brotos da plantas visitadas pelas abelhas, o que foi proposto que a espécie *Mangifera indica* foi utilizada pelas abelhas, em diferentes épocas do ano na coleta de materiais para elaboração da própolis estudada e que houve um transporte direto destas substâncias, pelas abelhas, para a colmeia (DA SILVA et al., 2005).

Estudo de esteroides anabolizantes que são compostos estruturalmente semelhantes, e os seus espectros de íons produto obtidos por espectrometria de massa em tandem sob condições de ionização por eletro spray foram bastante difíceis de interpretar por causa das estruturas de poli anéis e falta de um centro de retenção de carga em suas estruturas químicas (GUAN et al., 2006). Os triterpenos tetracíclicos são moléculas apolares e, portanto, pouco ionizados usando ESI (Gamuchi 2017). Ácidos triterpênicos foram identificados por ESI em modo negativo, mas a hidroxila (OH) não foi detectado nem em polaridade positiva ou negativa (NAUMOSKA; VOVK, 2015), o que no caso modo negativo foi possível a ionização dos ácidos triterpenicos e triterpenos com duas o mais hidroxila encontrados na fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*, como sugestão de ESI para estes tipos de compostos (SÁNCHEZ-ÁVILA et al., 2009), já os compostos das misturas RA H3 e RA H6 não foram encontrados no modo negativo o que não foi possível ionizar eles neste modo, mas eles apresentam uma hidroxila só, mesmo que foi possível íonizar alguns triterpenos com *n*-hidroxilas no nosso caso, mas com a preferencia deles serem íonizados no modo positivo, que tendo em conta foram encontrados poucos e foi determinado usar a polaridade positiva. Em geral, a fragmentação na

fonte negativa foi muito mais facilmente observado ácidos triterpenos quando a polaridade positiva foi usada.

O uso de CG espectrometria de massa (MS) é anterior ao desenvolvimento da ionização por eletrospray. A utilização da cromatografia gasosa na resina de *Myracrodruon urundeuva* teve sugestão pôr a NIST, 19 possíveis compostos de uma tentativa de identificação .A cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa tandem de tempo de voo quadrupolo (HPLC-Q-TOF-MS / MS) tornou-se uma das mais poderosas ferramentas analíticas devido à sua alta resolução e medições de massa precisas, sendo que ao fazer a análise da resina de *Myracrodruon urundeuva* foram encontrados 84 possíveis compostos como tentativa de identificação quando comparado com o resultado da cromatografia gasosa.

4.4.4 Análise por técnicas espectroscópicas das misturas obtidas da fração hexânica da resina *Myracrodruon urundeuva* RA H3, RA H6 e F

A parte da fração hexânica (300 mg) que foi submetido a cromatografia em coluna sobre gel de sílica com gradiente de n-hexano-acetato de etilo no EPCLC AI-580S produziu 37,3 mg para um 12.43 % de rendimento e a Figura 33 mostra a cromatografia em camada delgada (CCD). Para o desenvolvimento da placa foi usado como solventes hexano/acetato (9:1), quando a mancha envolvida no processo cromatográfico não foi possível de visualizar, usou-se a técnica de aquecer a placa. RA H3 foi obtido como pó amorfo branco, solúvel em diclorometano; $R_f = 0,45$ e deu teste positivo ao reagente de Lieberman-Buchard indicando um esqueleto triterpenoide e/ou esteroide.

Figura 33– Cromatografia em camada delgada (CCD) de RA H3 corada com reagente de Libermann



Fonte: MORENO, 2019

4.4.4.1 Análise de RMN da mistura RA H3

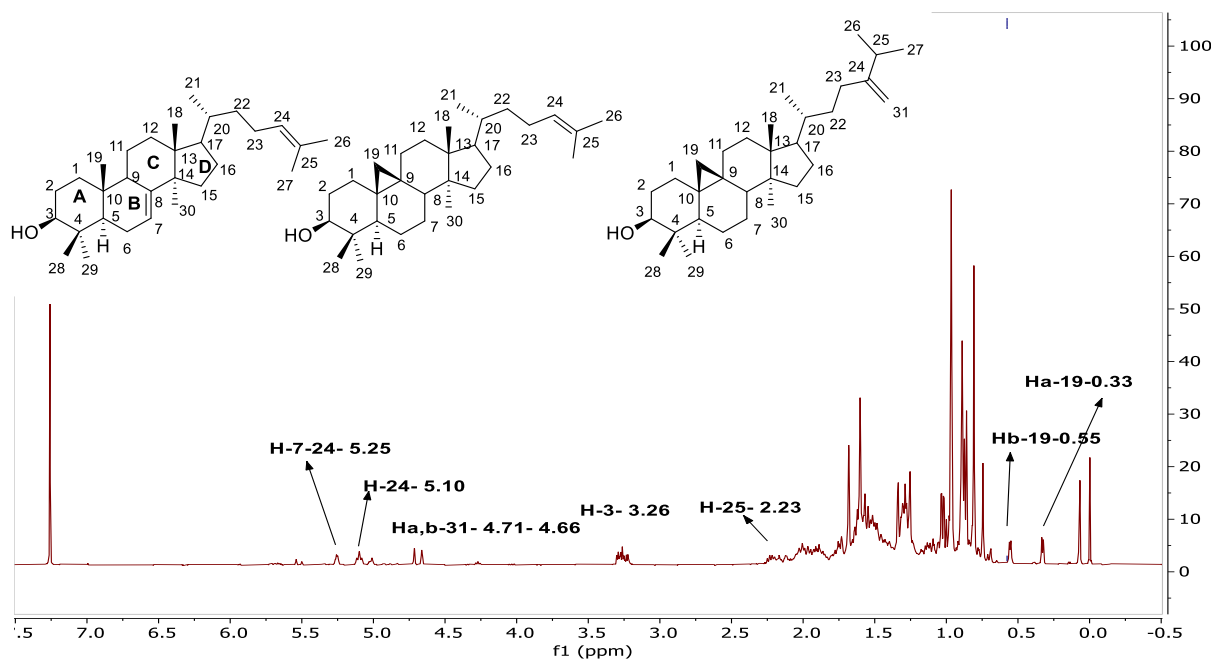
A identificação da mistura de triterpenoides esteroidais RA H3 foi realizada pela análise de RMN de ^1H , ^{13}C APT, os espectros são mostrados na Figura 34 e Figura 35 respectivamente e os dados foram comparados com a literatura (DA SILVA et al., 2005; LEE et al., 2010; WU et al., 2006; YOSHIDA et al., 1989). Nestes casos, foram utilizados os espectros bidimensionais COSY, HSQC e HMBC. Espectros bidimensionais RMN COSY (400 MHz CDCl_3), HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) e HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3 são mostrados nas Figuras 36, 37 e 38 respectivamente.

Os deslocamentos químicos dos carbonos e de prótons dos triterpenoides identificados nesta mistura estão listados nas Tabela 27 e 28. A análise do espectro de RMN ^{13}C foi realizada com base na metodologia relatada para misturas de triterpenos (OLEA; ROQUE, 1990). No espectro de RMN de ^{13}C para o caso de β -Butirospermol (1) e β -cicloartenol (2) foram encontrados trinta carbonos para cada um dos compostos que tem coincidência com os deslocamentos químicos de carbono das estruturas propostas, incluindo sete e oito metilas (CH_3), onze metilenos (CH_2), seis para um e sete metinos (CH) para o outro composto e seis carbonos quaternários(C). Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C mostraram sinais característicos com o deslocamento em 0,33 e 0,55 ppm (29,96; C-19; 30,15 C-30), como pode ser visto no espectro ampliando RMN ^1H dos sinais na Figura 34 e na Figura 37 no espectro HSQC correlação do

carbono com os prótons para o grupo metileno de um anel ciclopropano, respectivamente. Revisados e analisados os dados descritos e por comparação com os publicados Tabela 27 e 28 (WU et al., 2006; YOSHIDA et al., 1989), são propostos β -cicloartenol (2) e β -Butirospermol (1).

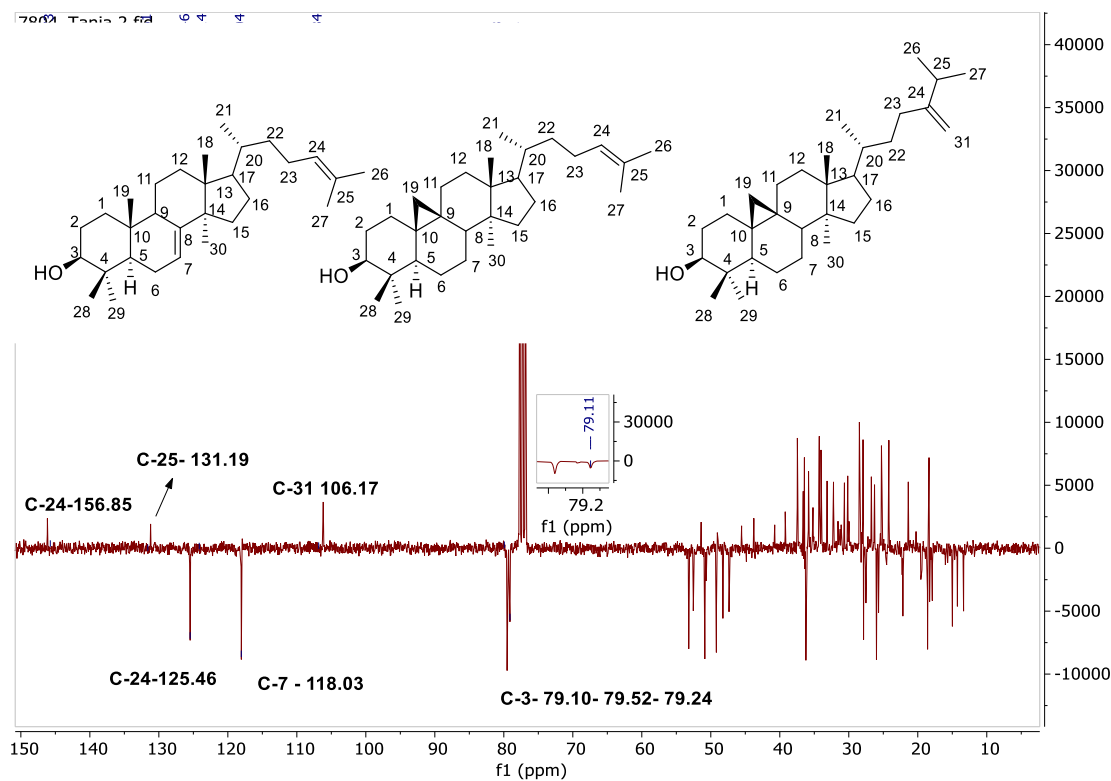
Para o caso do 24-metilen cicloartanol foram encontrados 31 carbonos Tabela 29 incluindo 0,33 e 0,55 ppm (30,15 C-19). O deslocamento do carbono 157,15 e 33,71 ppm foi confirmado por HSQC e HMBC, Figura 37 e 38. Os deslocamentos dos prótons olefínicos 4,66 (br-s) e 4,71 (br-s) atribuído aos ^1H -31 (a e b) relacionado ao metileno exocíclico terminal, está em boa concordância com 24-metilen cicloartanol (3) e confirmado por HSQC Figura 37. Revisados e analisados os dados descritos e por comparação com o publicado (LEE et al., 2010), Tabela 29 como também foram comparados e analisados (KRSTIĆ et al., 2016; YOSHIDA et al., 1989), mostrando as possíveis estruturas identificadas da mistura RA H3 na Figura 46.

Figura 34– Espectro de RMN ^1H (400 MHz CDCl_3) da mistura RA H3



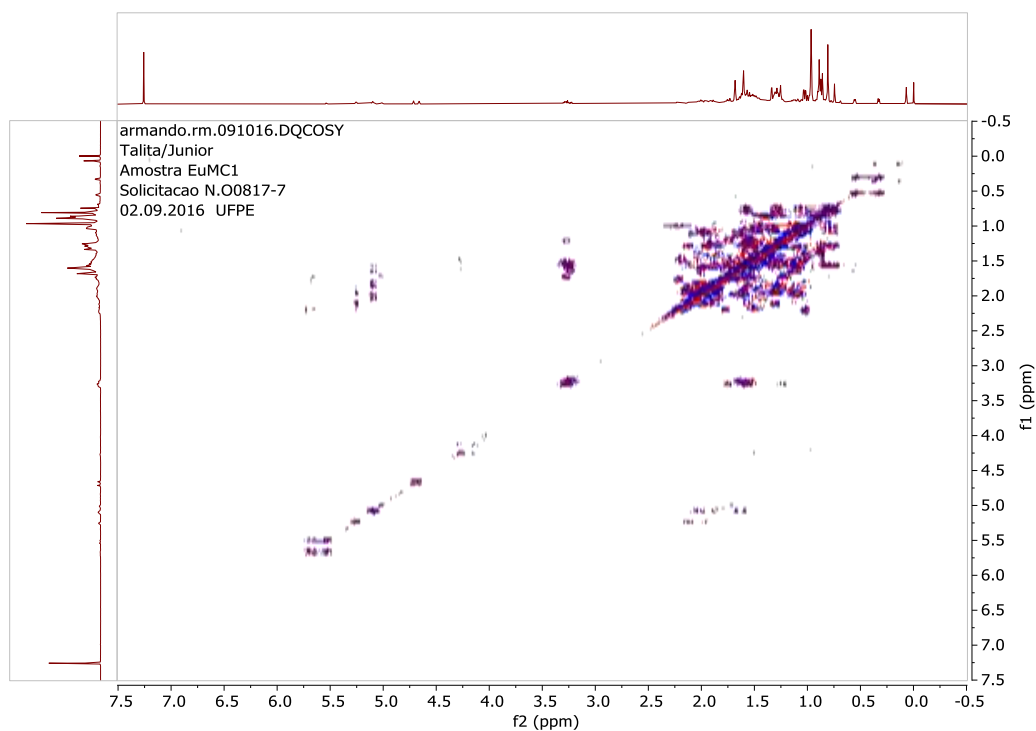
Fonte: MORENO, 2019

Figura 35– Espectro de RMN ^{13}C (77 MHz CDCl_3) (APT) da mistura RA3

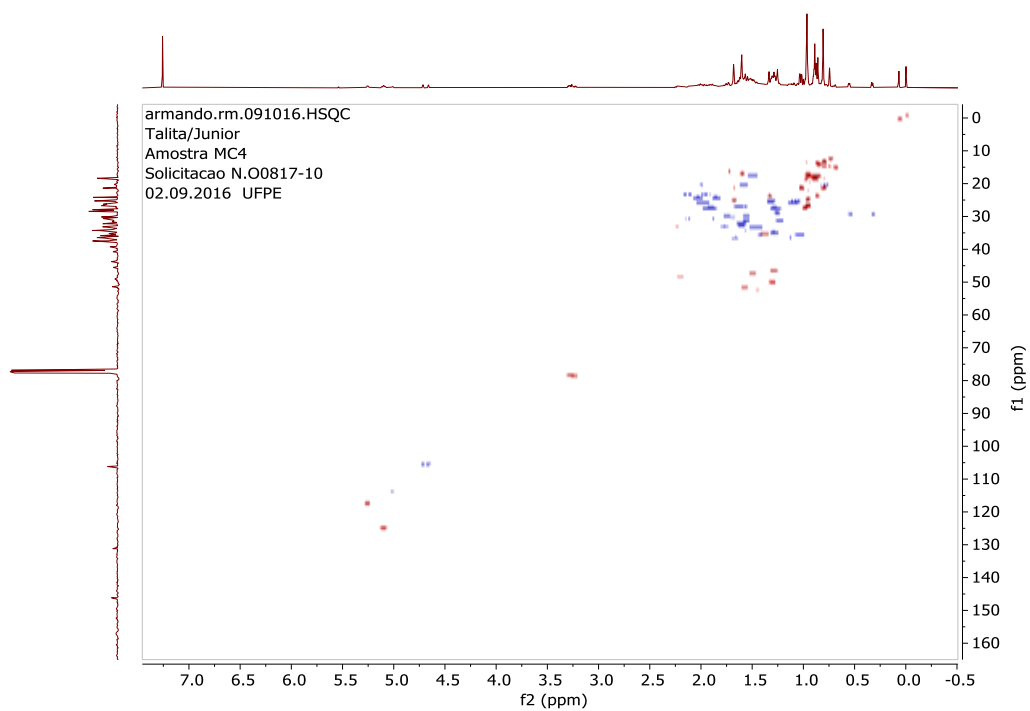


Fonte: MORENO, 2019

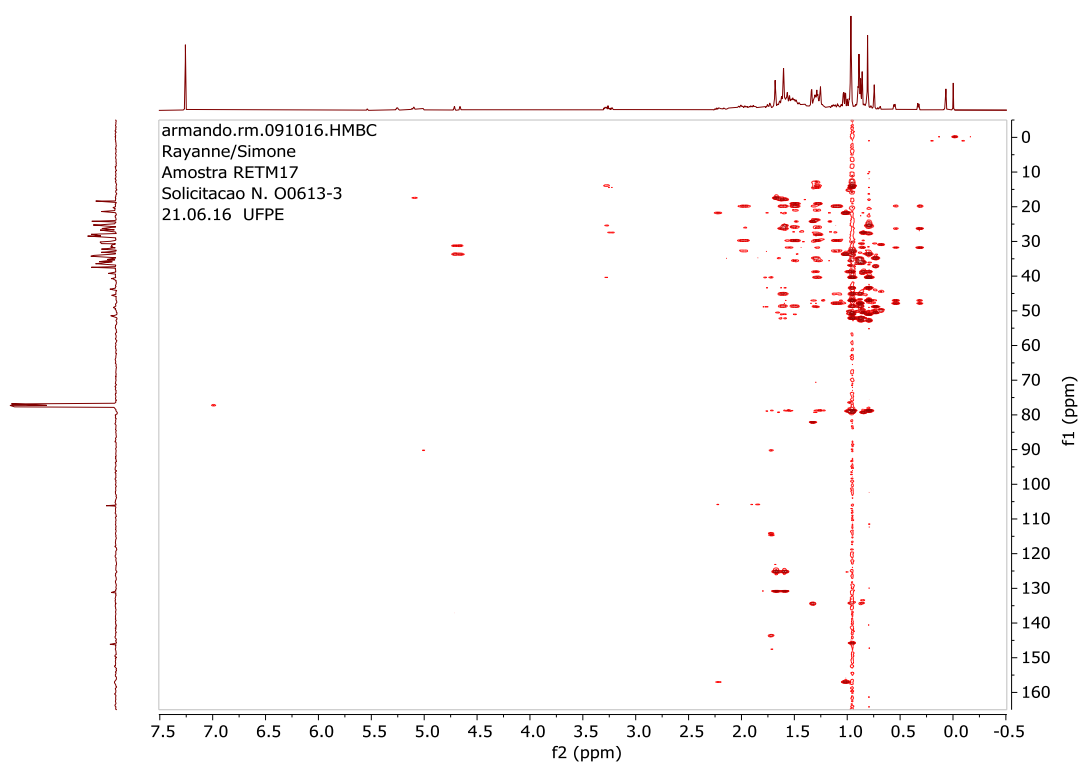
Figura 36– Espectro de RMN COSY (400 MHz CDCl_3) da mistura RA H3



Fonte: MORENO, 2019

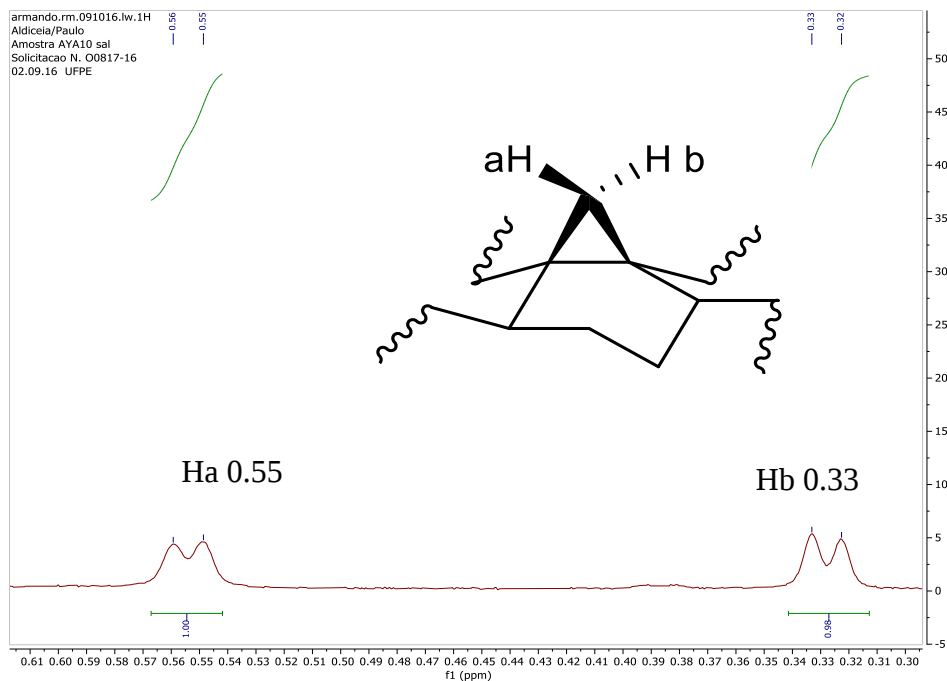
Figura 37– Espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3

Fonte: MORENO, 2019

Figura 38– Espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3

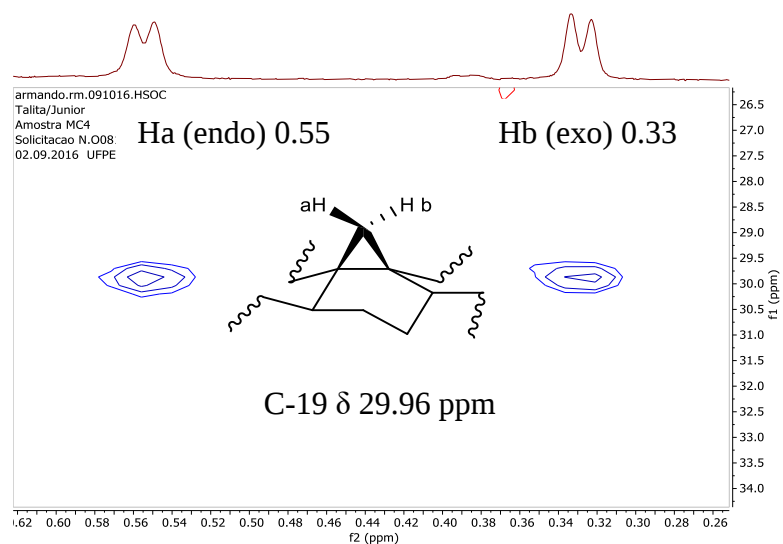
Fonte: MORENO, 2019

Figura 39– Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz CDCl_3) da mistura RA H3



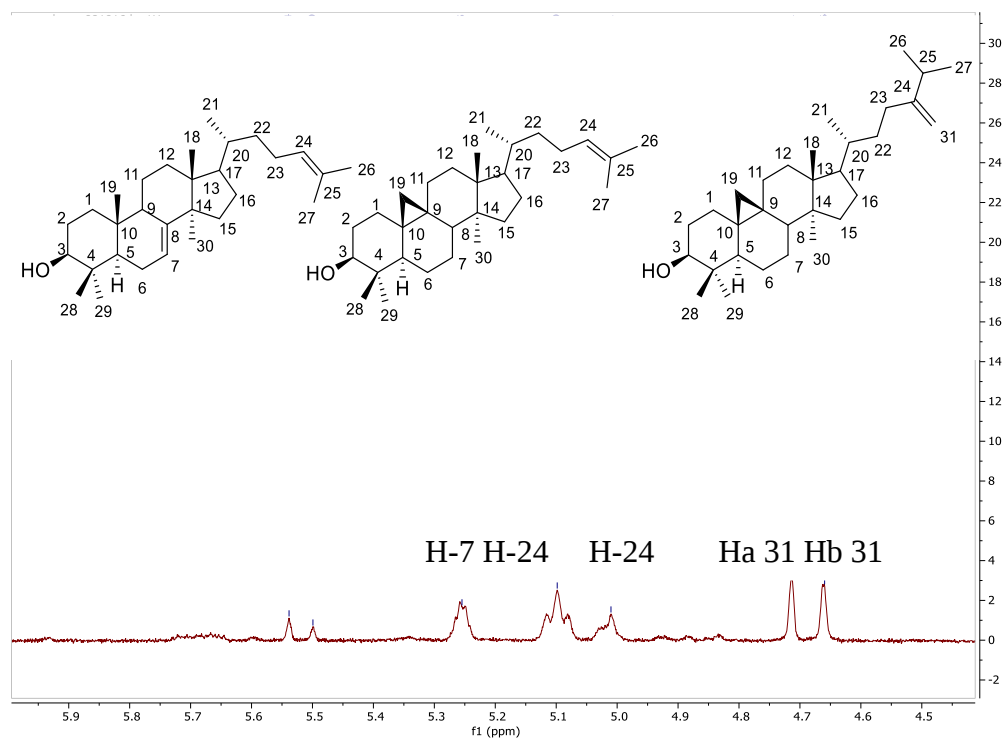
Fonte: MORENO, 2019

Figura 40– Expansão do espectro de RMN HSQC (1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3



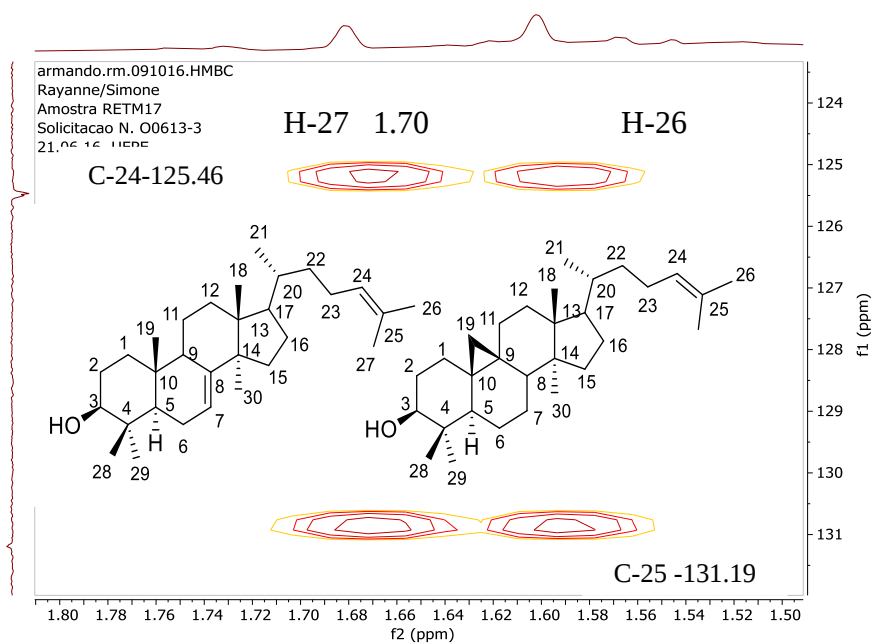
Fonte: MORENO, 2019

Figura 41– Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz CDCl_3) prótons olefínicos da mistura RA H3



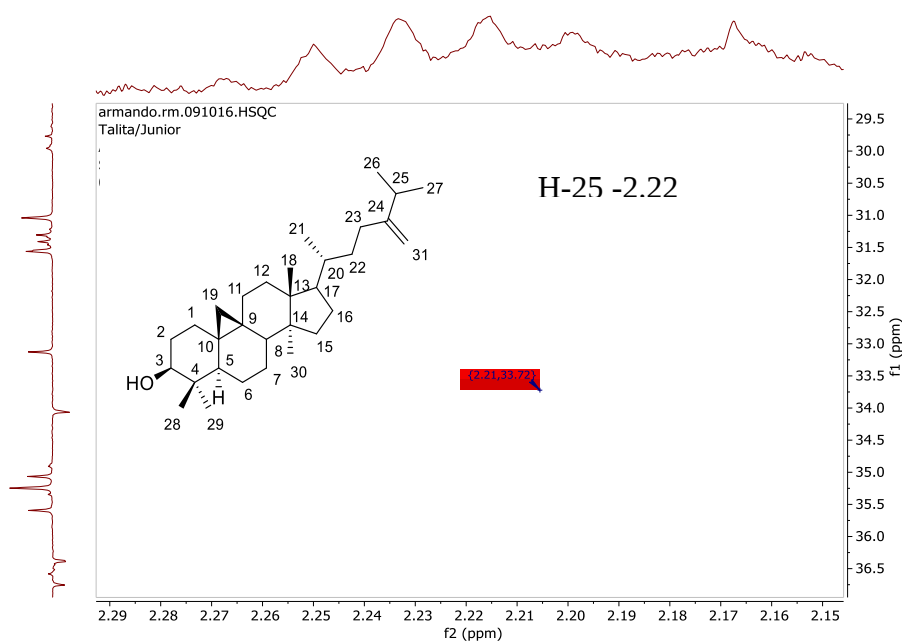
Fonte: MORENO, 2019

Figura 42– Expansão do espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz ^{13}C 100 CDCl_3) da mistura RA H3



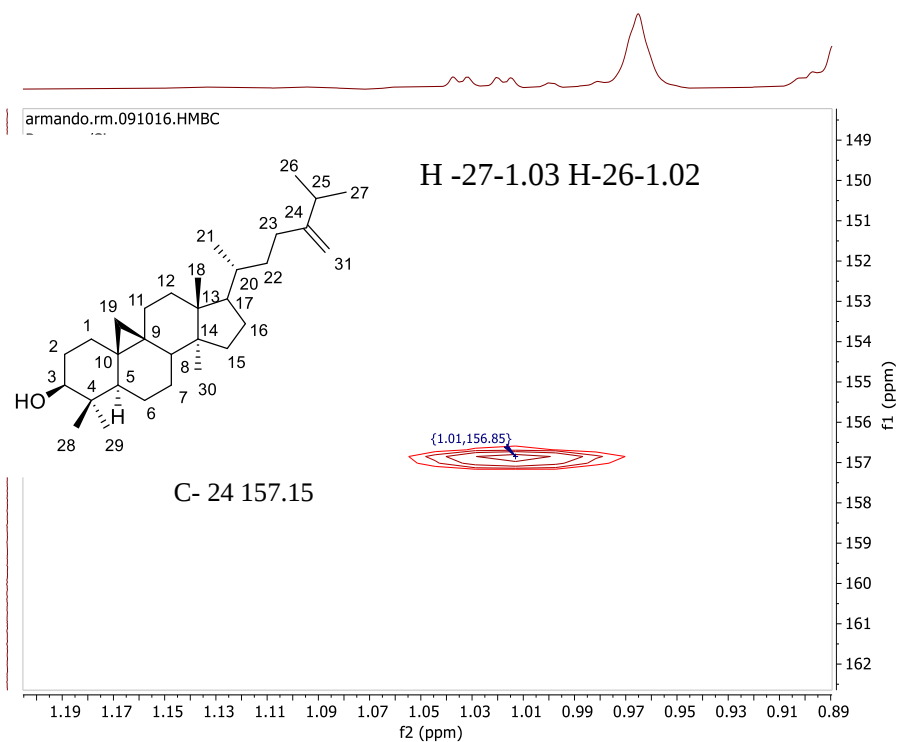
Fonte: MORENO, 2019

Figura 43– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3



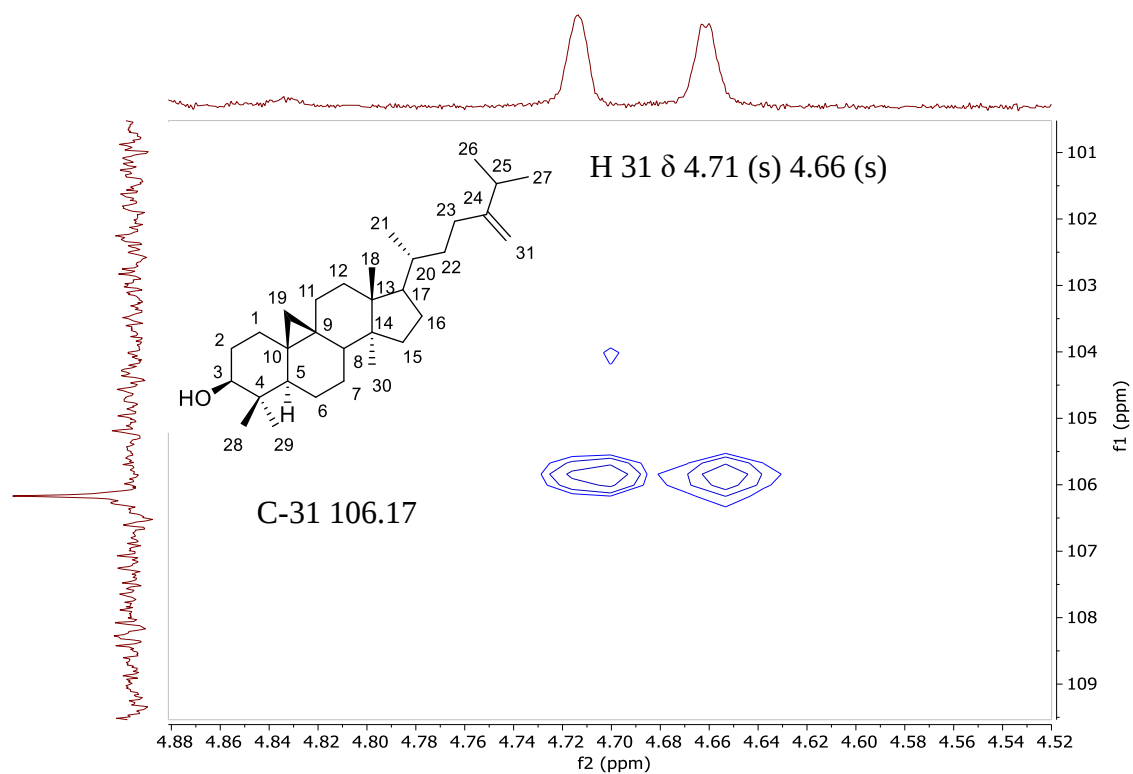
Fonte: MORENO, 2019

Figura 44– Expansão do espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3



Fonte: MORENO, 2019

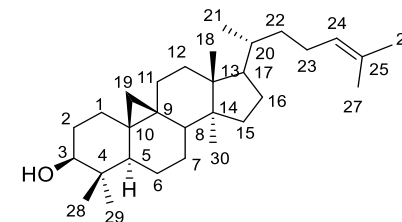
Figura 45– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H3



Fonte: MORENO, 2019

Tabela 27– Dados de RMN ^1H (400 MHz CDCl_3) e RMN ^{13}C (77 MHz CDCl_3) RA H 3 β -Cicloartenol

No C	δ C Literatura Piridina -ds	δ C Experimental CDCl_3	δ H Literatura 500 MHz Piridina -ds	δ ^1H Experimental 400 Mz CDCl_3	COSY	HMBC $^2\text{J}_{\text{CH}}$	HMBC $^3\text{J}_{\text{CH}}$
C-1	32,54	32,21	CH2	1 α 1,585,1 β 1,262	1,57, 1,25	H19a, b	
C-2	31,22	31,26	CH2	2 α 1,915,2 β 1,825	1,91,1,83		
C-3	78,23	79,10	O-CH	3-H 3,453 dd	3,26 (dd, $J = 15,6, 11,1, 4,2$ Hz, 3H)	H2a, b-H28-H29	H-2 H-28, H-29
C-4	41,09	40,73	C				
C-5	47,64	47,36	CH	5-H 1.363 dd	1,34 d	H6-H19a, b	
C-6	21,47	21,37	CH2	6 α 1,650, 6 β 0.845 qd	1,66,1,64- 0,84 qd		
C-7	26,33	26,31	CH2	7 α 1,111 qd, 7 β 1,367 dddd	1,11;1,40		
C-8	48,04	48,24	CH	8-H 1,590 dd			
C-9	20,28	20,25	C				
C-10	26,91	26,72	C				
C-11	26,93	26,25	CH2	11 α 2,003 ddd, 1 β 1,196 ddd			
C-12	33,48	33,14	CH2	12 α 1,666 m, 12 β 1,666 m			
C-13	45,82	45,53	C				
C-14	49,25	49,04	C				
C-15	35,93	35,83	CH2	15 α 1,343 m, 15 β 1,343 m			
C-16	28,43	28,46	CH2	16 α 1,953 m, 16 β 1,368 m			
C-17	52,79	52,53	CH	17-H 1,666 m			
C-18	18,19	18,28	CH3	18-CH3 1,054 s	1.00 s		
C-19	29,91	29,96	CH2	19- exo 0,319 d, 19-endo 0,615 d	0,55 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 0,33 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H)	H1a, b-H5, H8, H11	
C-20	36,23	36,21	CH	20-H 1,493. ddqd			
C-21	18,67	18,58	CH3	21-CH3 0,980 d	0.97 s		
C-22	36,82	36,60	CH2	22 α 1,180 dddd, 22 β 1,578. dddd			
C-23	25,45	25,19	CH2	23 α 2,000 ddt, 23 β 2,140. dddd			
C-24	125,89	125,46	CH	24-H 5,242 tsep	5,25 ($J = 3,7$ Hz,)	H23, H26, H27	H-26, H-27
C-25	130,69	131,19	C				
C-26	17,67	17,89	CH3	26 CH3 1,640 br. s	1,60 s	H24, H27	H-27, H-24
C-27	25,66	25,68	CH3	27 CH3 1,703 br. s	1,68 s	H24, H26	H-26, H-24
C-28	26,12	25,98	CH3	28-CH3 1,378 s	1,34 s	H3, H5, H28	H-3, H-5
C-29	14,66	14,98	CH3	29-CH3 1,179 s	124 s	H3, H5, H28	H-3, H-5
C-30	19,62	19,56	CH3	30-CH3 0,959 s	0,97 s	H8, H15	

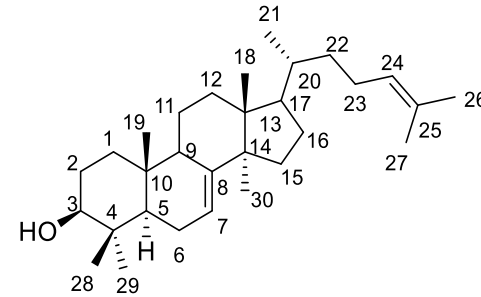


Yoshida, Kumi, et al. "Conformational analysis of cycloartenol, 24-methylenecycloartanol and their derivatives." *Agricultural and Biological Chemistry* 53.7 (1989): 1901-1912

Fonte: MORENO, 2019

Tabela 28– Dados de RMN RMN ¹H (400 MHz CDCl₃) e RMN ¹³C (77 MHz CDCl₃) RA H 3 β-Butirospermol

No	Literatura CDCl ₃	δc Experimental CDCl ₃	APT	δH literatura 500 Mz CDCl ₃	δH experimental 400 Mz CDCl ₃	COSY	HMBC	² J _{CH}	HMBC	³ J _{CH}
C-1	37,2	37,45	CH2							
C-2	27,7	27,93	CH2							
C-3	79,3	79,52	O-CH	3,25 dd J=11,5	3,26 (dd, J = 15,6, 11,1, 4,2 Hz, 3H)	H28, H-29			H-28, H-29	
C-4	39,0	39,21	C							
C-5	50,7	50,65	CH							
C-6	24,0	24,18	CH2							
C-7	117,8	118,03	CH	5,25 (J = 3,4 Hz)	5,255 (J = 3,6 Hz, 1H)					
C-8	145,9	146,15	C							
C-9	49,0	49,18	CH							
C-10	35,0	35,18	C							
C-11	18,2	18,37	CH2							
C-12	33,8	34,04	CH2							
C-13	43,6	43,76	C							
C-14	51,3	51,40	C							
C-15	34,0	34,28	CH2							
C-16	28,5	28,46	CH2							
C-17	53,2	53,19	CH							
C-18	13,1	13,36	CH3	0,80 (s)	0,81 s					
C-19	22,1	22,15	CH3	0,74 (s)	0,75 s					
C-20	35,8	35,83	CH							
C-21	18,6	18,28	CH3	0,84 (s)	0,86 s					
C-22	35,2	35,24	CH2							
C-23	25,4	25,19	CH2							
C-24	125,1	125,46	CH	5,09 (t, J = 7,0 Hz)	5,10 (t, J=7,2 Hz)				H-26, H-27	
C-25	130,9	131,19	C				H-24, H-26, H-27			
C-26	17,6	18,04	CH3	1,60(s)	1,60 s	H-24, H27			H-24, H-27	
C-27	25,7	25,68	CH3	1,68(s)	1,68 s	H-24, H26			H-24, H-26	
C-28	27,6	27,86	CH3	0,97(s)	0,97 s	H-3, H5			H-3	
C-29	27,3	27,52	CH3	0,97(s)	0,97 s	H-3, H5			H-3	
C-30	14,7	14,25	CH3	0,86(s)	0,87 s					

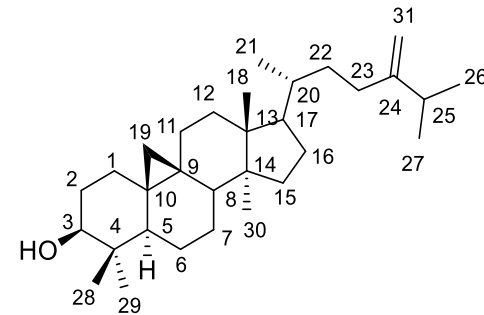


Wu, J., Li, M., Xiao, Z., & Zhou, Y. (2006). Butyrospermol fatty acid esters from the fruit of a Chinese mangrove *Xylocarpus granatum*. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 61(11), 1447-1449.

Fonte: MORENO, 2019

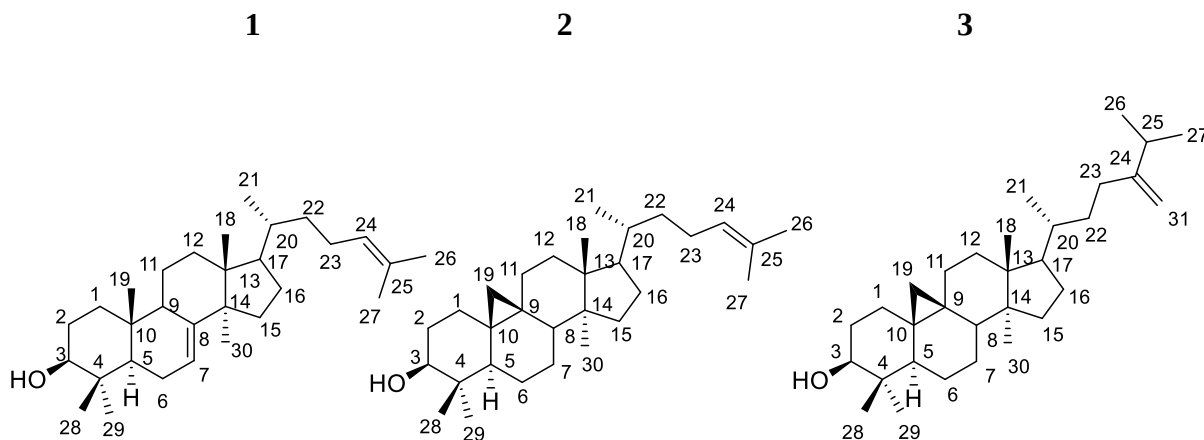
Tabela 29– Dados de RMN RMN ^1H (400 MHz CDCl_3) e RMN ^{13}C (77 MHz CDCl_3) RA H 3 β -24-Metilen cicloartenol

No	Literatura CDCl_3 125 MHz	δc Experimental CDCl_3	APT	δH literatura 500 Mz CDCl_3	δH experimental 400 Mz CDCl_3	COSY	HMBC $^2\text{J}_{\text{CH}}$	HMBC $^3\text{J}_{\text{CH}}$
C-1	32,2	32,22	CH2					
C-2	30,6	30,54	CH2					
C-3	79,1	79,24	O-CH	3,29 (1H, dd, J = 4,6, 11,5 Hz, H-3)	3,30 (ddd, J = 15,6, 11,1, 4,2 Hz, 3H)	H-1, H2 H28, H-29		H-28; H-29
C-4	40,7	40,74	C					
C-5	47,3	47,37	CH					
C-6	21,3	21,25	CH2					
C-7	26,2	26,26	CH2					
C-8	48,2	48,24	CH					
C-9	20,2	20,25	C					
C-10	26,3	26,27	C					
C-11	26,7	26,72	CH2					
C-12	33,1	33,14	CH2					
C-13	45,5	45,53	C					
C-14	49,0	49,04	C					
C-15	35,8	35,83	CH2					
C-16	28,4	28,39	CH2					
C-17	52,5	52,53	CH					
C-18	18,2	18,28	CH3	0,97 (3H, s, H-18)	0,96 (s)			
C-19	30,1	30,15	CH2	0,56 (1H, d, J = 4,0 Hz, H-19b)	0,55 (d, J = 4,3 Hz, 1H),			
C-20	36,3	36,13	CH	0,33(1H, d, J = 4,0 Hz, H-19a)	0,33 (d, J = 4,2 Hz, 1H)			
C-21	18,5	18,58	CH3	0,90 (3H, d, J = 6,2 Hz, H-21)	0,89 (s)			
C-22	35,2	35,23	CH2					
C-23	31,5	31,56	CH2					
C-24	157,1	156,85	C				H-25	H-26, H-27
C-25	34,0	33,71	CH		2,23	H-26, H27	H-26; H-27	H-31
C-26	22,2	22,25	CH3	1,02 (3H, d, J = 6,5 Hz, H-26)	1,02 (d, J = 2,2 Hz, 2H)	H-25, H27	H-25	H-27
C-27	22,1	22,10	CH3	1,03 (3H, d, J = 6,5 Hz, H-27)	1,03 (d, J = 2,3 Hz, 3H)	H-25, H26	H-25	H-26
C-28	256	25,67	CH3	0,90 (3H, s, H-28)	0,89 (s, 3H)	H-3, H5		H-3
C-29	14,2	14,25	CH3	0,97 (3H, s, H-29)	0,97 (d, J = 1,4 Hz, 3H)	H-3, H5		H-3
C-30	19,6	19,40	CH3	0,81(3H, s, H-30)	0,81 (s, 3H)			
C-31	106,1	106,17	=CH2	4,73 (1H, br s; 4,68 (1H, d, J = 1.5 Hz)	4,71 (s, 1H), 4,66 (d, J = 1.6 Hz, 1H)			H-25



Fonte: MORENO, 2019

Figura 46– Triterpenos propostos da mistura RA H-3, β -butirospermol (1), (2) β -cicloartenol, β -24-metilen cicloartenol (3)

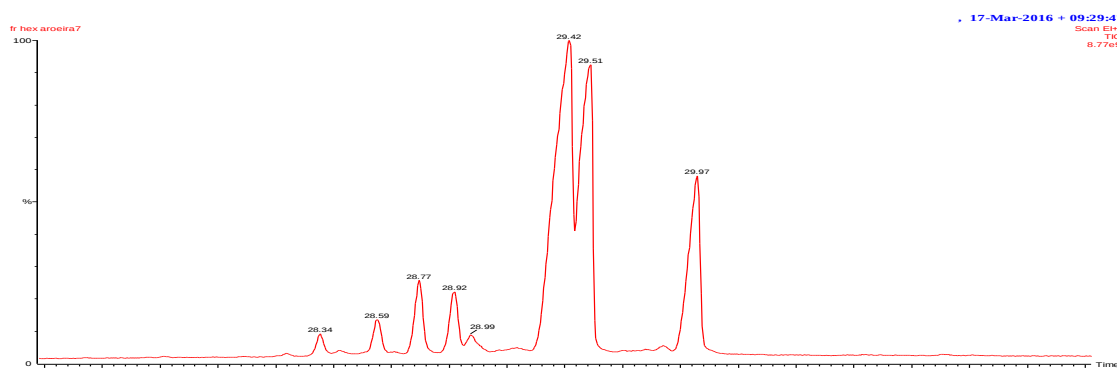


Fonte: MORENO, 2019

4.4.4.2 Análise por cromatografia gasosa da mistura RA H3 obtida da fração hexânica da resina *Myracrodruon urundeuva*

O cromatograma gasoso (Figura 47) para a fração hexânica da resina de RA H3 por sugestão da biblioteca NIST do sistema deu por sugestão sete constituintes triterpenóides esteroidais, podendo ser relatado pela primeira vez em resina da aroeira *Myracrodruon urundeuva*. Os picos mais significativos apareceram aos 29,42 minutos foi identificado como cicloartenol. O composto possuindo tempo de retenção (*tr*) de 29,51 minutos, foi identificado como butirospermol e o (*tr*) 29,97 foi identificado como 24-metilen-cycloartanol. Isolamento e purificação não foram possíveis provavelmente devido à presença de estruturas semelhantes na mistura.

Figura 47– Cromatograma gasoso de RA H3

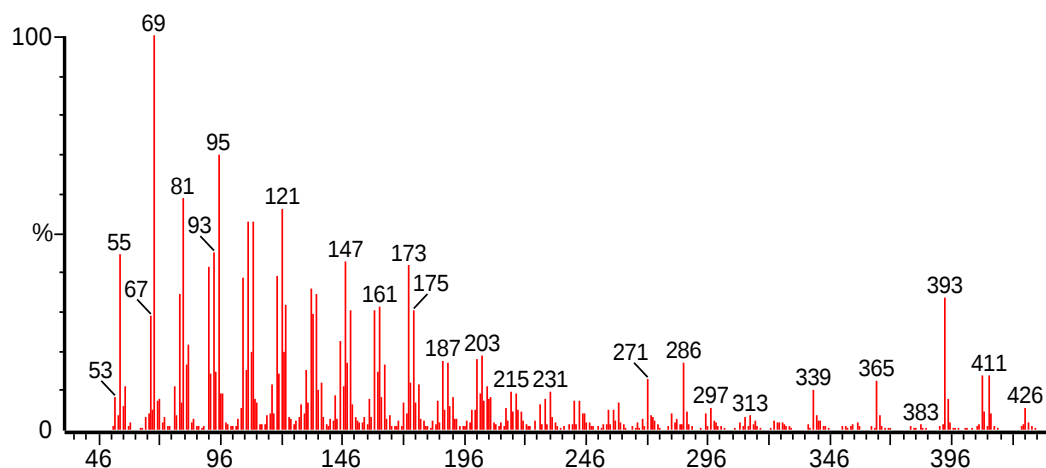


Fonte: MORENO, 2019

Figura 48– Espectro de massa de cicloartenol (1), pico Tr = (29,42) obtido por GC-MS

, 17-Mar-2016 + 0

fr hex aroeira7 5083 (29.423)



Fonte: MORENO, 2019

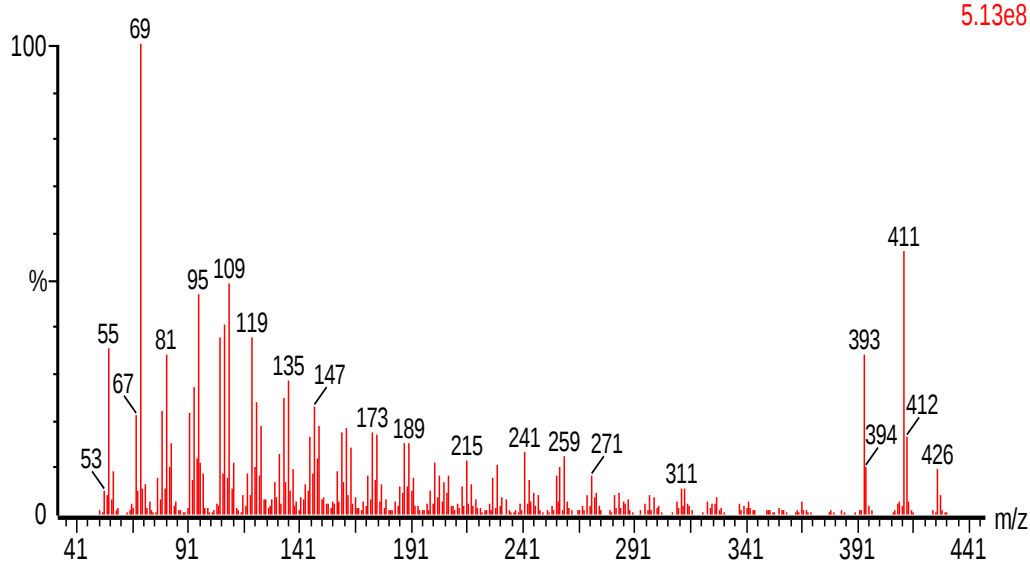
O composto 1 apresentou uma massa molecular de 426 [M]⁺, o espectro mostra fragmentações característicos em 411 [M-CH₃]⁺, 393 [M-CH₃H₂O]⁺, e fragmento base (100 %) 69 [M-C₅H₉]⁺

Figura 49– Espectro de massa de butirospermol (2). Pico Tr = 29,51

, 17-Mar-2016 + 09:29:47

fr hex aroeira7 5101 (29.513)

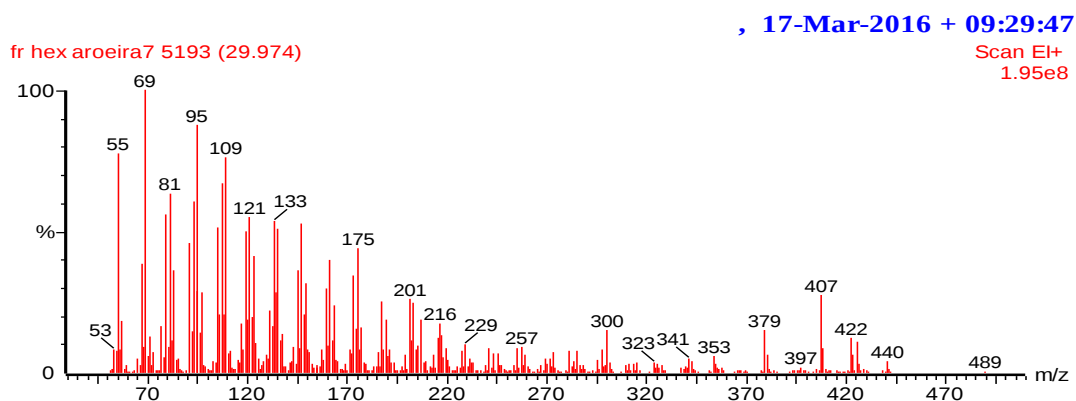
Scan EI+
5.13e8



Fonte: MORENO, 2019

O espectro de massa de 2 foi muito semelhante ao de 1, a estrutura 2 foi sugerida por NIST como cicloartenol. O espectro mostra picos característicos m/z 426 $[M]^+$; 411 $[M-CH_3]^+$, 95 $[M-C_7H_{11}]$ e 69 $[M-C_5H_9]$.

Figura 50– Espectro de massa de 24-metilencicloartanol (3), pico Tr = (29,97)



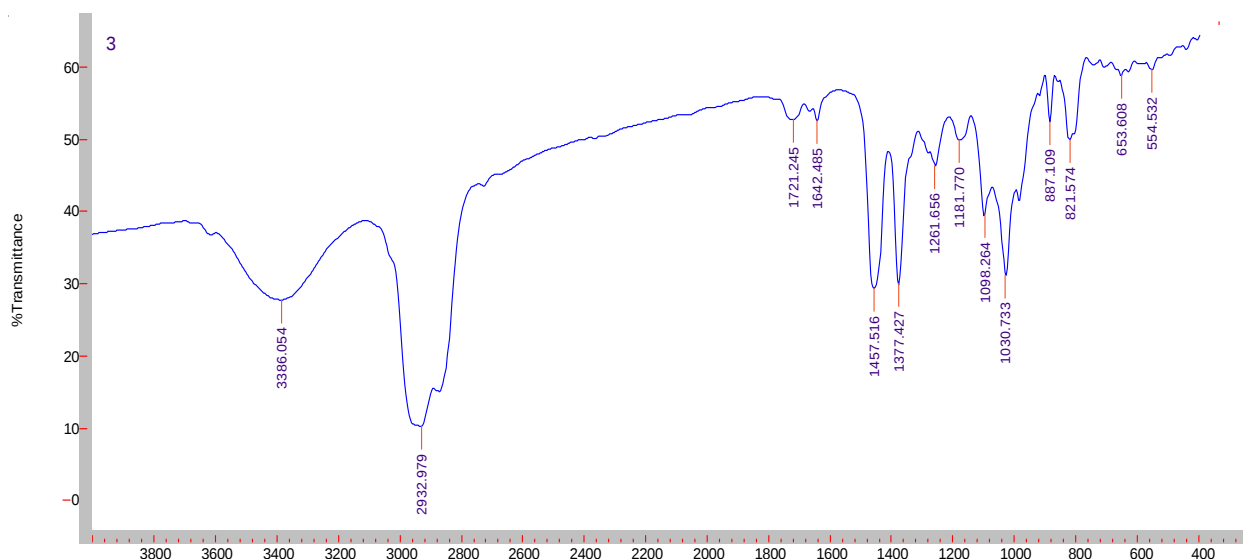
Fonte: MORENO, 2019

O composto 3 apresentou uma massa molecular de 440 $[M]^+$, o espectro mostra fragmentações característicos em 422 $[M-H_2O]^+$, 407 $[M-CH_3H_2O]^+$.

Os principais grupos funcionais de RA H3 foram identificados empregando-se a espectrometria no infravermelho. Na Figura 51, está representado o espectro de absorção no infravermelho. O espectro no infravermelho registrou absorções em 3366 cm^{-1} próprias de hidroxilas de álcool, também é possível verificar que RA H3 apresenta bandas, 1642 cm^{-1} próprias de deformação axial C=C ou as bandas de 1642 e 887 cm^{-1} , também podem ser indicativas de um grupo metileno exocíclico; 2932 e 2872 cm^{-1} deformação axial em estruturas alifáticas, 1457 cm^{-1} deformação angular de CH_2 e CH_3 , e é encontrado banda de pouca intensidade a 1721 cm^{-1} típica de estiramento de carbonila não conjugada que poderia ser atribuída a deformação axial de C=O, só que não é encontrado deslocamento químico de carbono em RMN para esse grupo.

O resultado obtido do cromatograma também foi consultado com a base de dados e conforme sugestão da biblioteca NIST do sistema é mostrado na Tabela 30, analisados todos os picos do cromatograma, como possíveis substâncias de RA H3.

Figura 51– Espectro de IV da mistura RA H3



Fonte: MORENO, 2019

Tabela 30– Substâncias propostas de RA H3 por CG

Pico	Tr(min)	FM	M.+	% A	Proposta do composto	Prob (%)
1	28,34	C ₃₀ H ₅₀ O	426	1,23	9,19-ciclolanost-7-en-3-ol	30,8
2	28,59	C ₃₀ H ₅₀ O	426	2,12	9,19-ciclolanost-7-en-3-ol	37,6
3	28,77	C ₃₀ H ₅₀ O	426	5,09	Lanosterol	46,5
4	28,92	C ₃₀ H ₅₀ O	426	4,16	cicloartenol	33,4
5	29,42	C ₃₀ H ₅₀ O	426	42,00	9,19-ciclolanost-24- en-3-ol	71,5
6	29,51	C ₃₀ H ₅₀ O	426	27,82	Lanosterol	49,0
7	29,97	C ₃₁ H ₅₂ O	440	16,14	9,19-ciclolanost-24- metilen-3-ol	68,7

Fonte: MORENO, 2019

4.4.4.3 UPLC-DAD-QTOF-MS/MS Mistura RA H3 em modo positivo.

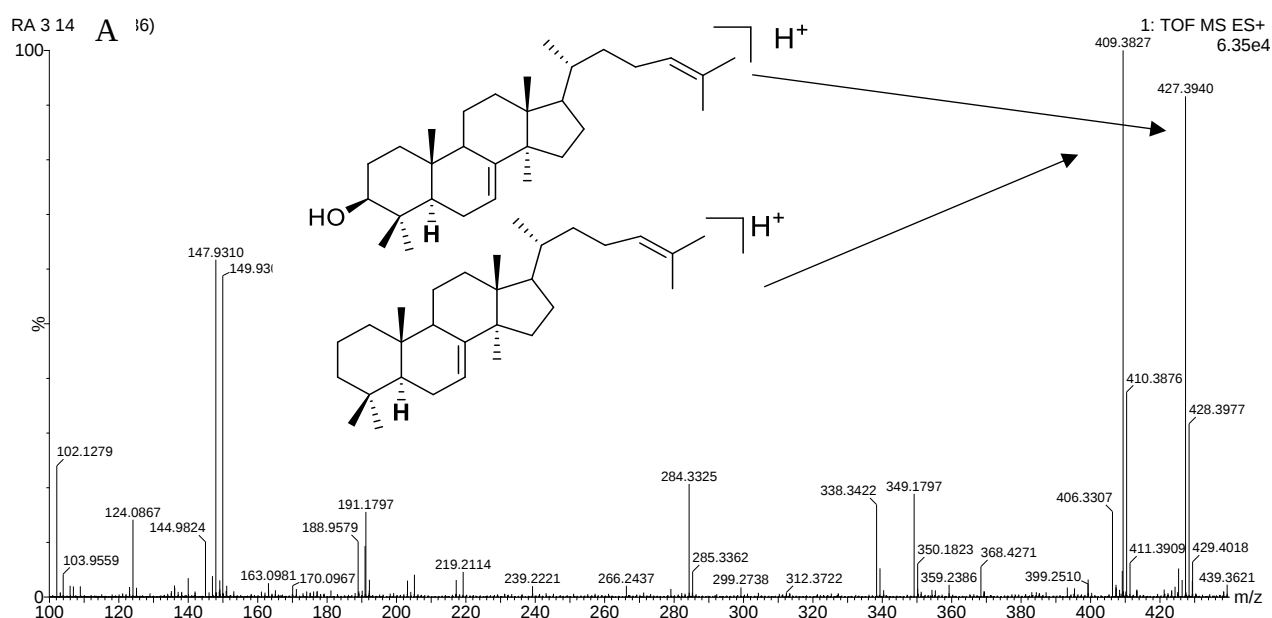
Como técnica mais precisa foi injetada RA H3 na massa de alta resolução (UPLC-PDA-qTOF-MS/MS) obtendo o cromatograma e espectros de massas são mostrados na Figura 52. Dados das massas obtidas foram consultados na base de dados METLIN (<https://metlin.scripps.edu/>), obtendo-se os compostos proposto por RMN na Tabela 31.

Tabela 31– Resultado do cromatograma de RA H3 obtido da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*

$\lambda_{\text{máx}}$	$[M+H]^+$	Calculada	Fragmentos	Proposta
226	427,3936	427,3934;	$[M-H-H_2O]^+$ 409,3836	butirospermol
224	427,3927	427,3934;	$[M-H-H_2O]^+$ 409,3853	cicloartenol
226	441,4089	441,4091	$[M-H-H_2O]^+$ 423,3926	24-metilen-cicloartanol

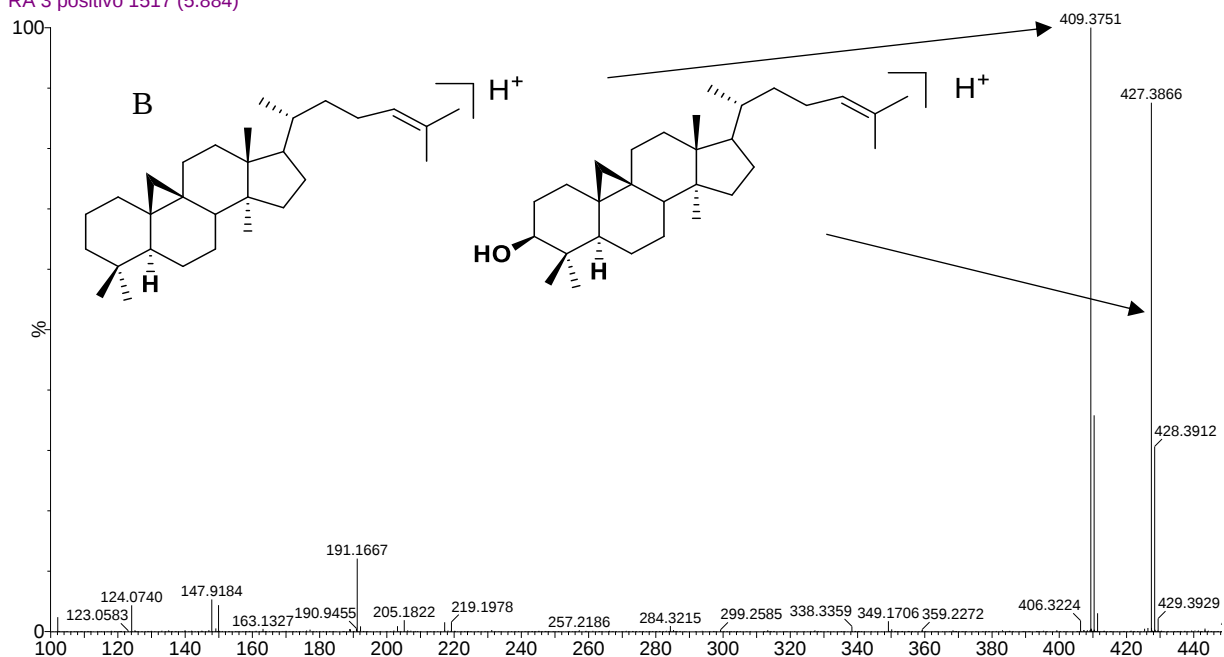
Fonte: MORENO, 2019

Figura 52– Espectros de massas UPLC-DAD-QTOF-MS/MS modo positivo de RA H3, butirospermol A (1), Cicloartenol B (2) e 24-metilencicloartanol C (3)

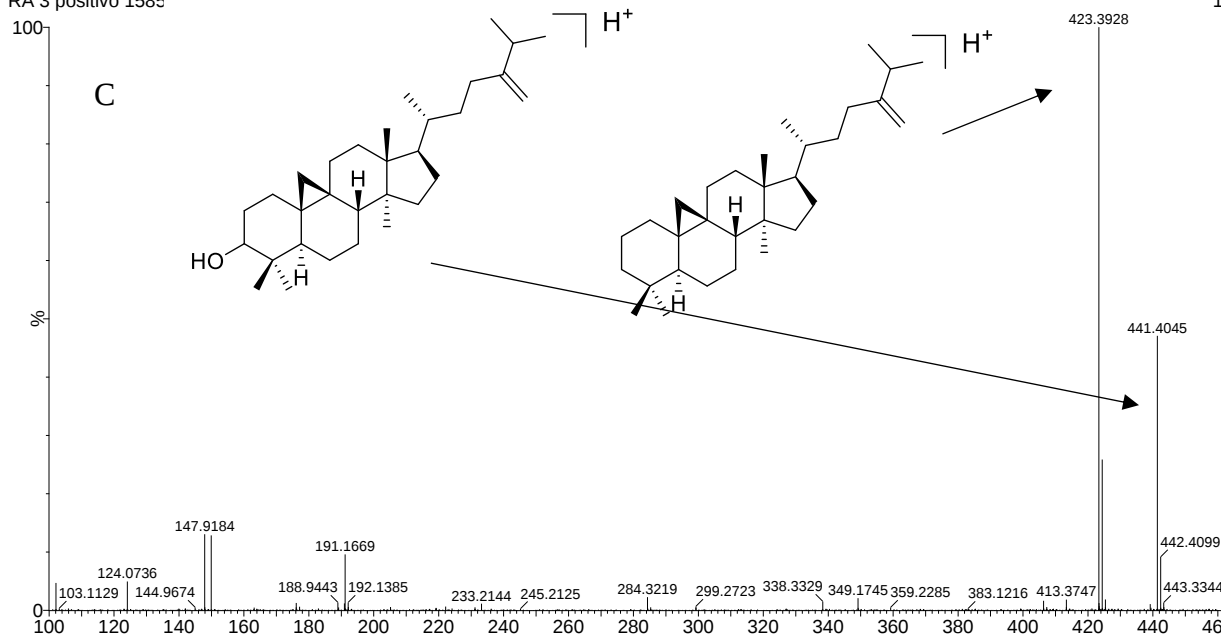


Fonte: MORENO, 2019

RA 3 positivo 1517 (5.884)



RA 3 positivo 1585

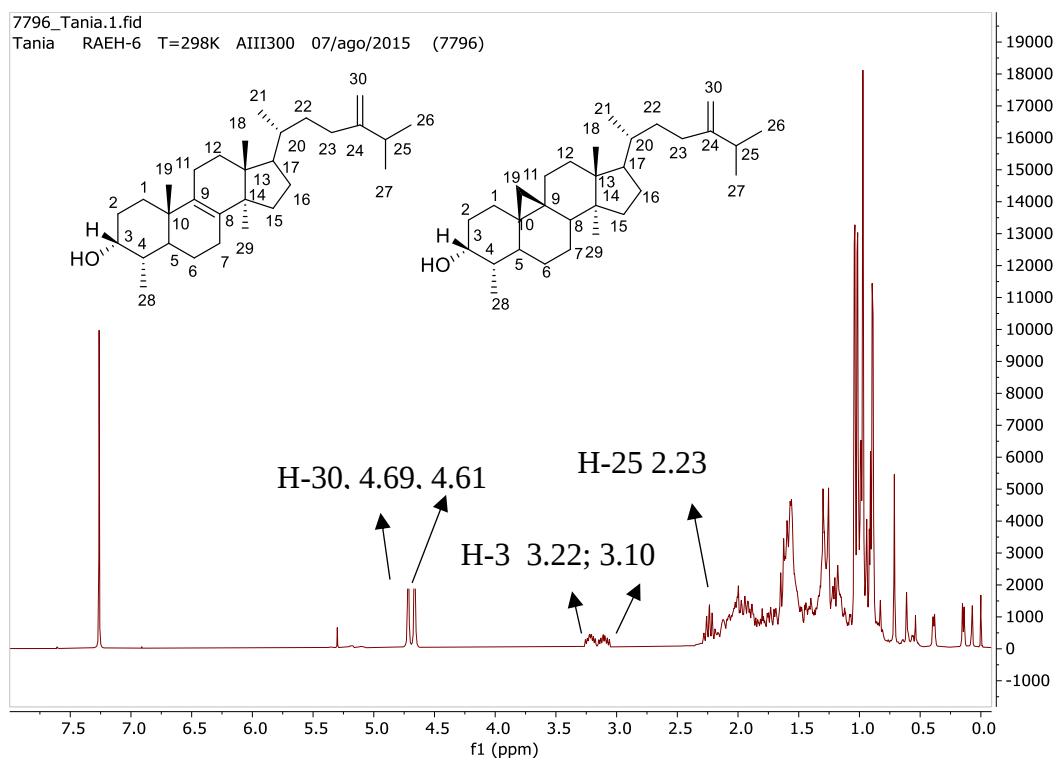


Fonte: MORENO, 2019

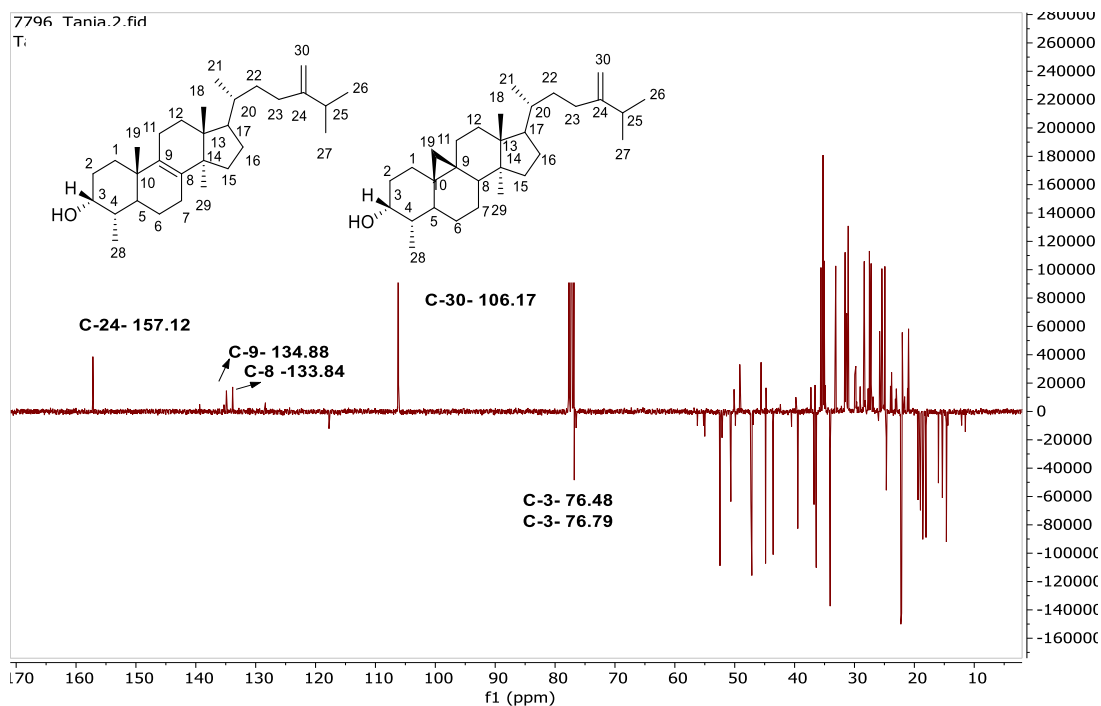
4.4.4.4 Interpretação dos espectros de RMN dos componentes identificados de RA H6

A identificação da mistura de triterpenoides esteroidais RA H6 foi realizada pela análise de RMN de ^1H , ^{13}C APT, os espectros são mostrados nas Figuras 53 e 554 respectivamente e os dados foram comparados com a literatura. (DE et al., 1987; KAWAI et al., 2007; KHAN; KHAN; ATHER, 2006; KIKUCHI; KADOTA; TSUBONO, 1986; SHAMSABADIPOUR et al., 2013). Neste caso, também foram utilizados os espectros bidimensionais COSY, HSQC e HMBC. Espectros bidimensionais RMN COSY (400 MHz CDCl_3), HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) e HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6 são mostrados nas Figuras 55, 56 e 57 respectivamente. Os deslocamentos químicos dos carbonos dos triterpenoides identificados neste trabalho estão listados nas Tabelas 32 e 33. A análise do espectro de RMN ^{13}C foi realizada com base na metodologia relatada para misturas de triterpenos (OLEA, R.S.G.; ROQUE, 1990).

No espectro de RMN de ^{13}C foram encontrados trinta carbonos que tem coincidência com os deslocamentos químicos de carbono do obtusifoliol, incluindo sete metilas (CH_3), onze metilenos (CH_2), sete metinos (CH) e seis carbonos quaternários (C), para o RMN de ^1H foram encontrados sete singletos de metilas, deslocamentos químicos de próton pertencentes a 0,539 (H-18); 0,828 (H19); 0,856 (H21); 0,888 (H26); 0,895 (H27); 0,713 (H-28) e 0,81 (H-29) com um duplete de duplete de duplete do próton em 3,10 (ddd, $J = 11.4, 9.7, 4.8$ Hz, 1H), indicativo do grupo hidroxilo em C-3 de 4-metil esteroides, juntamente com um par de protões olefínicos 4,66 (br-s) e 4,71 (br-s) atribuído aos ^1H -30 (a e b) relacionado ao metileno exocíclico terminal que estavam em boas concordância com o obtusifoliol (KIKUCHI; KADOTA; TSUBONO, 1986).

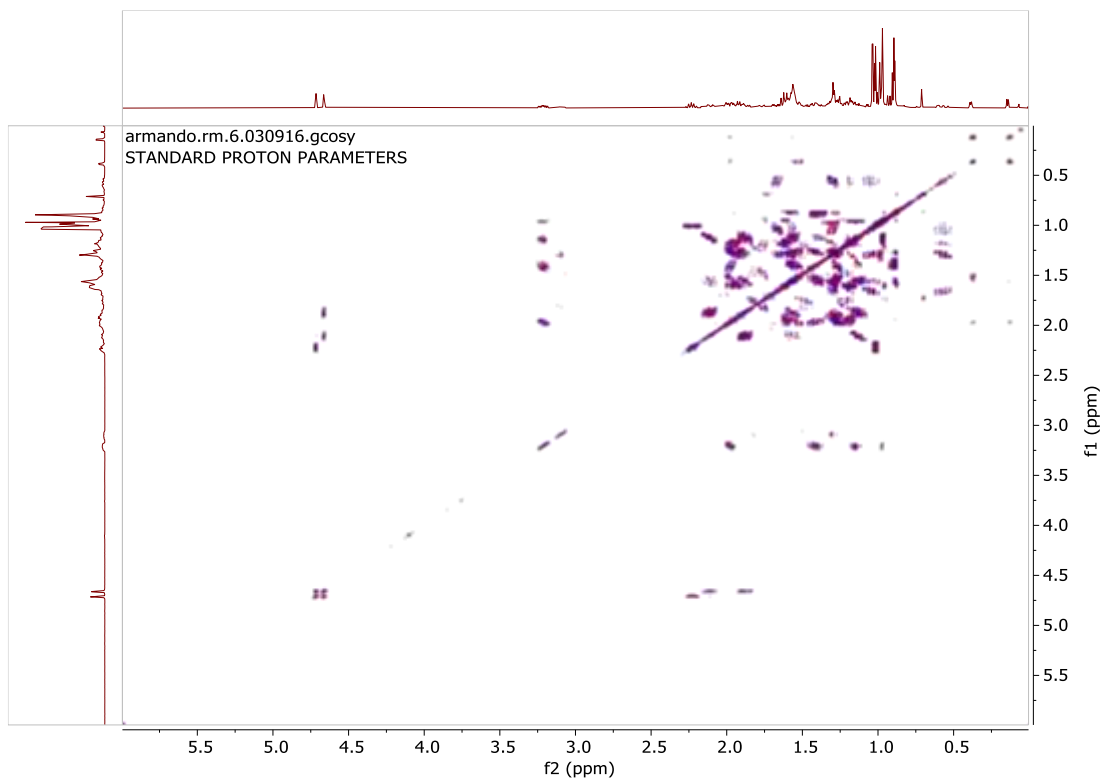
Figura 53– Espectro de RMN ^1H (400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6

Fonte: MORENO, 2019

Figura 54– Espectro de NMR ^{13}C (APT 75 MHz CDCl_3) da mistura RA H6

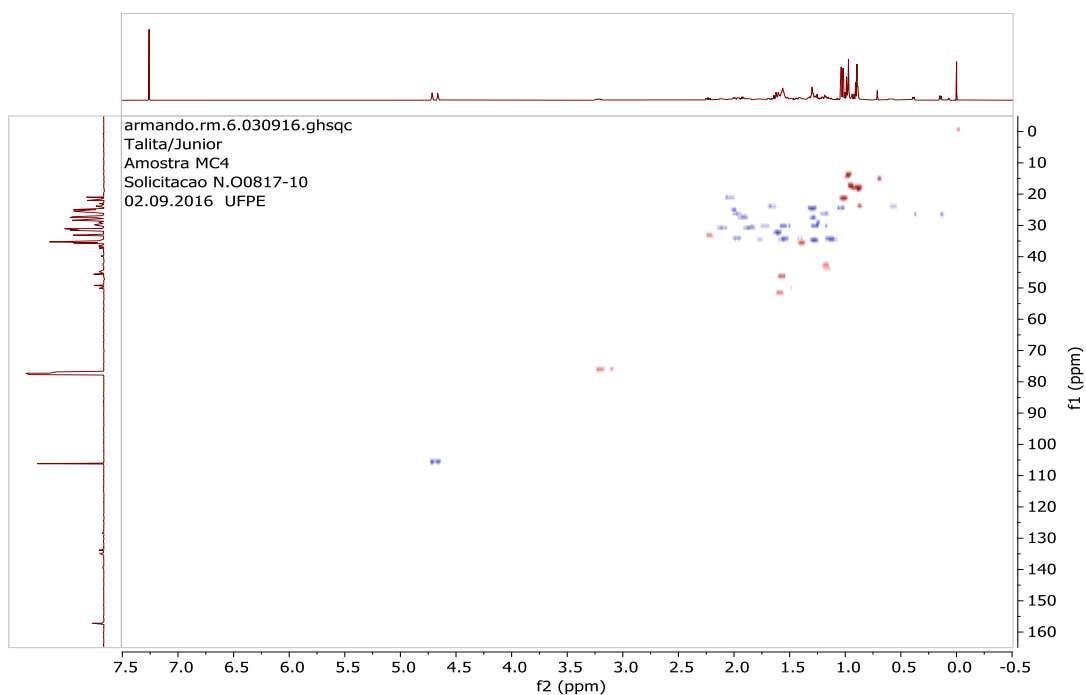
Fonte: MORENO, 2019

Figura 55– Espectro de RMN COSY (^1H 400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6



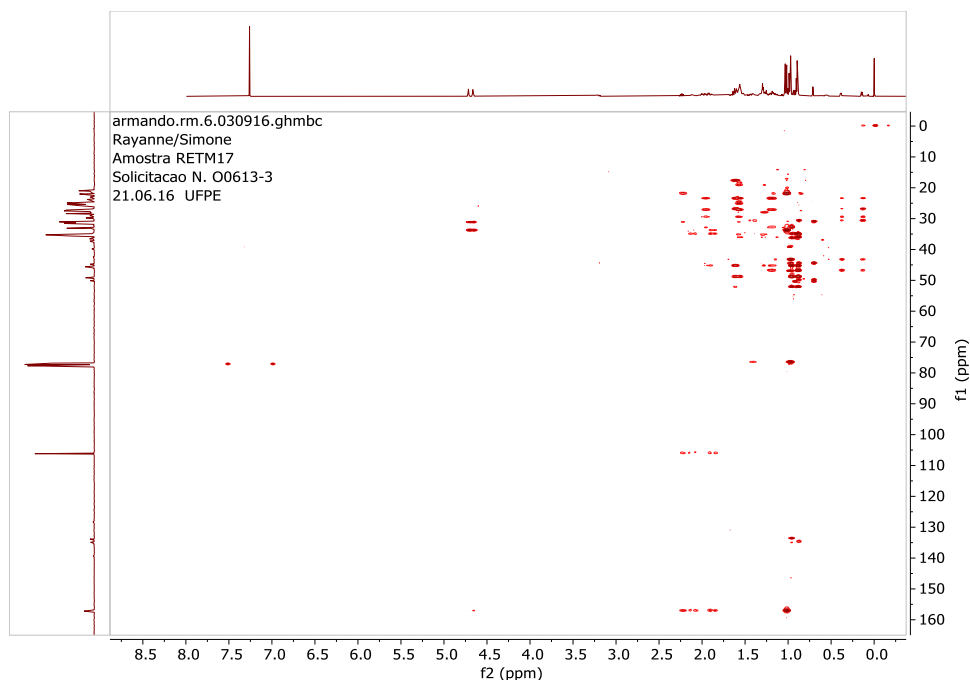
Fonte: MORENO, 2019

Figura 56– Espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6



Fonte: MORENO, 2019

Figura 57– Espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6

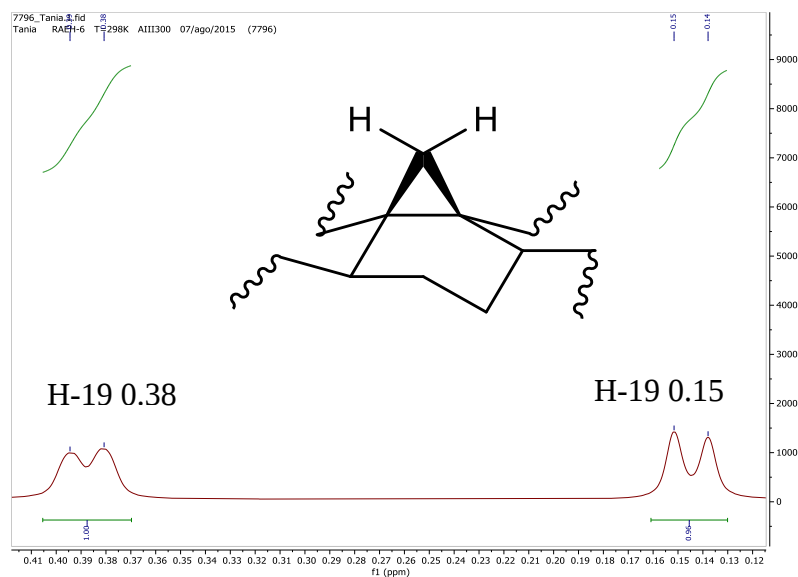


Fonte: MORENO, 2019

O espectro ^{13}C NMR mostrou dois sinais com o deslocamento químico em 133,84 e 134,88 ppm correspondendo a C-8, C-9 e outros dois sinais com o deslocamento químico em 106,17 e 157,12 atribuídos a C-28 e C-24 respectivamente, característicos de um esqueleto ergosta-8,24 (28) -dien. Um sinal com o deslocamento em 76,48 ppm é característico de um alfa C-3 hidroxilado (KIKUCHI; KADOTA; TSUBONO, 1986; SHAMSABADIPOUR et al., 2013). Revisados e analisados os dados descritos anteriormente e por comparação com os publicados (DE et al., 1987; KAWAI et al., 2007; KHAN; KHAN; ATHER, 2006; KIKUCHI; KADOTA; TSUBONO, 1986; SHAMSABADIPOUR et al., 2013), o composto 3 pode ser identificado como obtusifoliol (Dimetill-ergosta-8,24(28)-dien-3-alfa-ol).

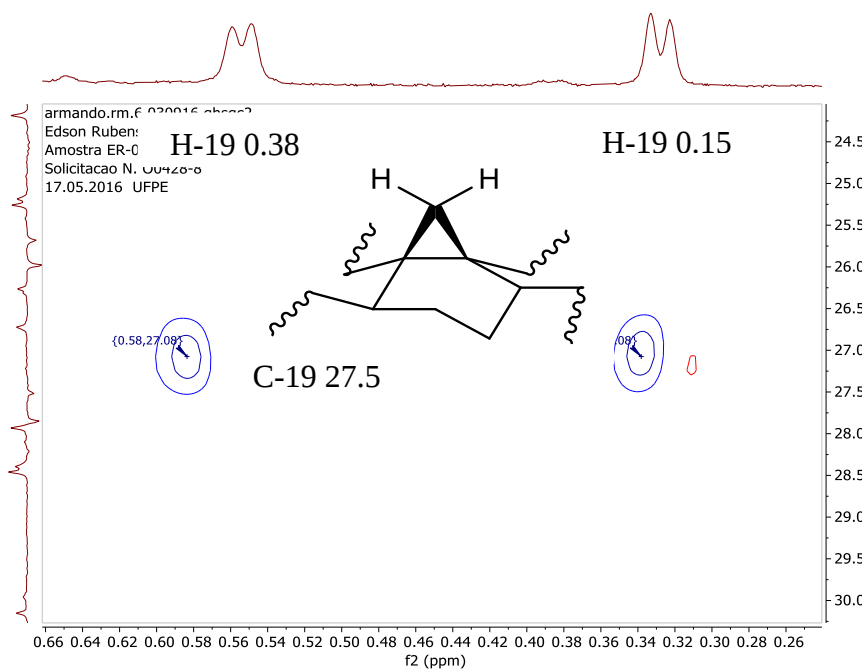
Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C (Figuras 53 e 54) mostraram sinais característicos com o deslocamento em 0,15 e 0,38 (27,51; C-19), como pode ser visto no espectro ampliando de RMN ^1H das sinais na Figura 58, e 0,98 (14,4; C-28), 0,90 (18,98, 19,3, C-21, C-29), 0,97 (18,4, C-18), 25,4, 1,03 (22,1, C-27) e 1,02 (22,2, C-26) para sete grupos metila, respectivamente. Na Figura 59 ampliações do espectro HSQC, correlação do carbono C-19 27,51 ppm, ligados aos prótons com deslocamento 0,15 e 0,38 ppm para o grupo metileno do anel ciclopropano.

Figura 58– Expansão do espectro de ^1H RMN (400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6



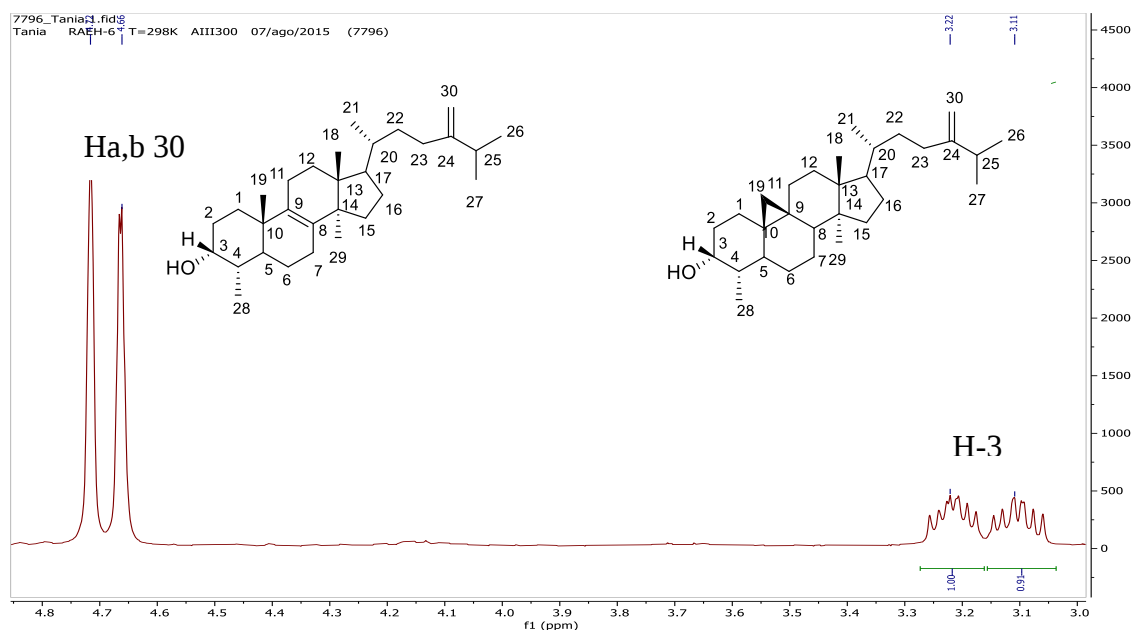
Fonte: MORENO, 2019

Figura 59– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6



Fonte: MORENO, 2019

Figura 60– Expansão do espectro de ^1H RMN (^1H 400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6



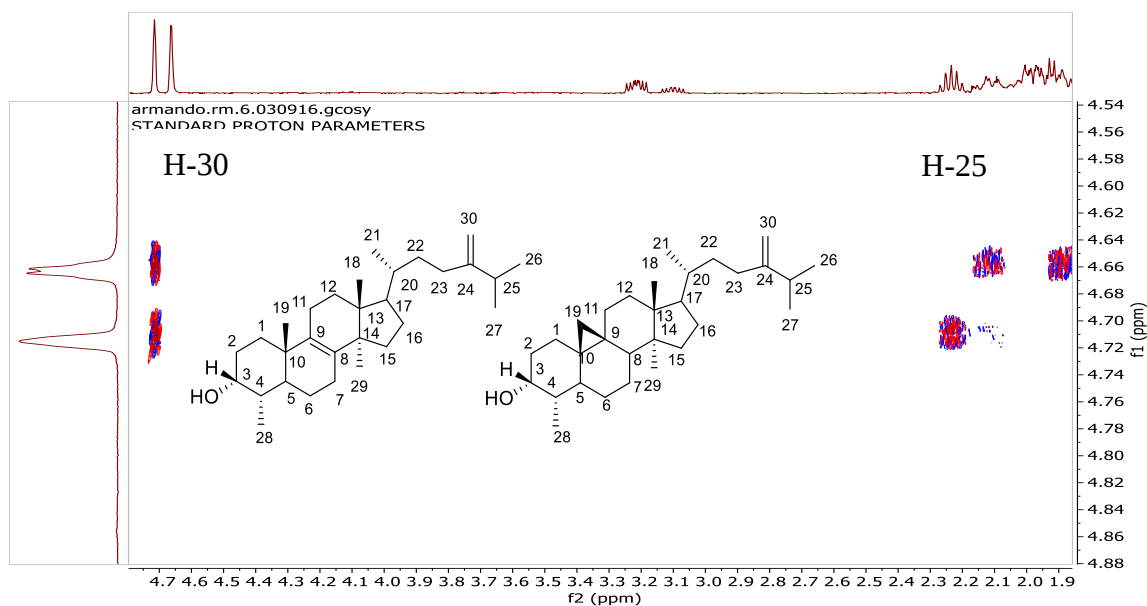
Fonte: MORENO, 2019

O deslocamento ilustrado na Figura 60 a 4,6 e 4,7 ppm também permitem a atribuição das estruturas olefínicas observadas nesta mistura. Ampliação do espectro de ^1H RMN (Figura 60) na região dos sinais relacionados aos prótons (ddd) C-3 hidroxilados e hidrogênios olefínicos C-30, designados ressonância dois prótons carbinólicos, um sinal em 3,10 ppm (ddd) para o próton C-3 de obtusifoliol e outro sinal 3,22 (ddd, $J = 10,6, 8,9, 4,6$ Hz, 1H) para o próton C-3 de cycloeucalenol.

A espectroscopia de correlação próton - próton (COSY) apresentada na Figura 61, mostra as ressonâncias dos ^1H (a) 4,66 e (b) 4,71 ppm, ambas proporcionam correlações de $^2\text{JC-H}$ e $^3\text{JC-H}$ com uma ressonância de ^1H a 2,23 ppm, do carbono C-25, mostrando a existência da parte da cadeia lateral. Correlações de coerência heteronuclear de ligação múltipla (HMBC), (Figura 62), a duas e três ligações ($^2\text{JC-H}$ e $^3\text{JC-H}$) são observadas entre a ressonância do ^{13}C (106,17 ppm) e os prótons ressoando a 2,23 ppm (C-25). Esses prótons também acoplam $^2\text{JC-H}$ e $^3\text{JC-H}$ com o carbono quaternário olefínico com ressonância 157,18 ppm, indicando que este carbono está ligado ao carbono dos prótons olefínicos (106,17 ppm), e a Figura 63 apresenta a ampliação do espectro HMBC onde pode-se ver o deslocamento com ressonância 2,23 ppm (C-25) e às metilas (C-26,27) 1,023 ppm com a ressonância do carbono olefínico quaternário a 157,18 ppm, indicando a existência da cadeia lateral do triterpeno.

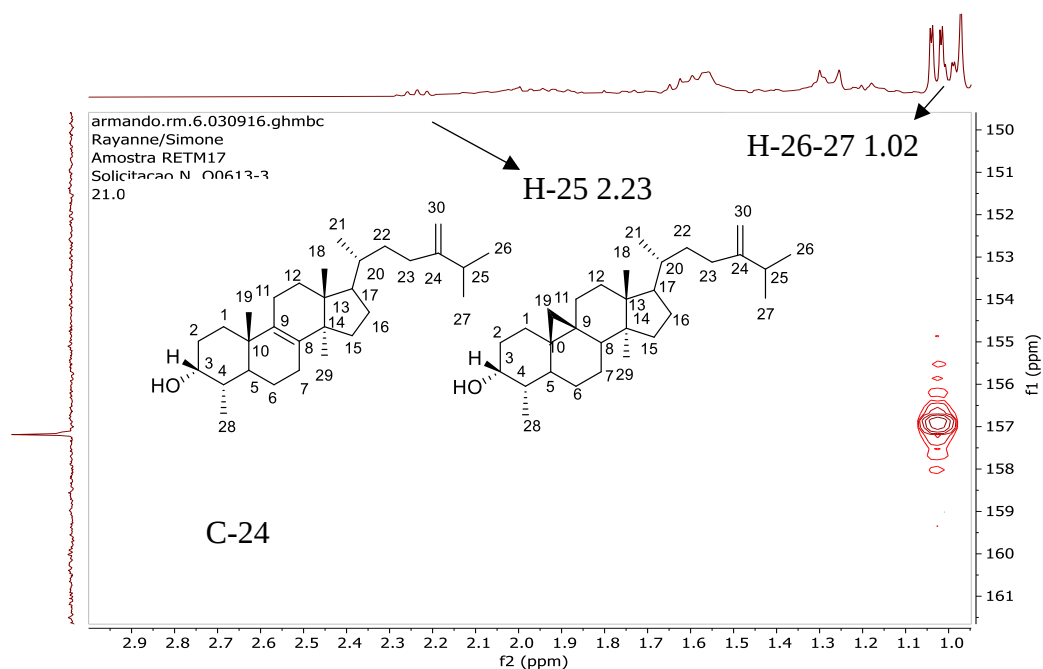
Figura 61- Expansão do espectro de RMN COSY (^1H 400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6

Figura 61– Expansão do espectro de RMN COSY (^1H 400 MHz CDCl_3) da mistura RA H6



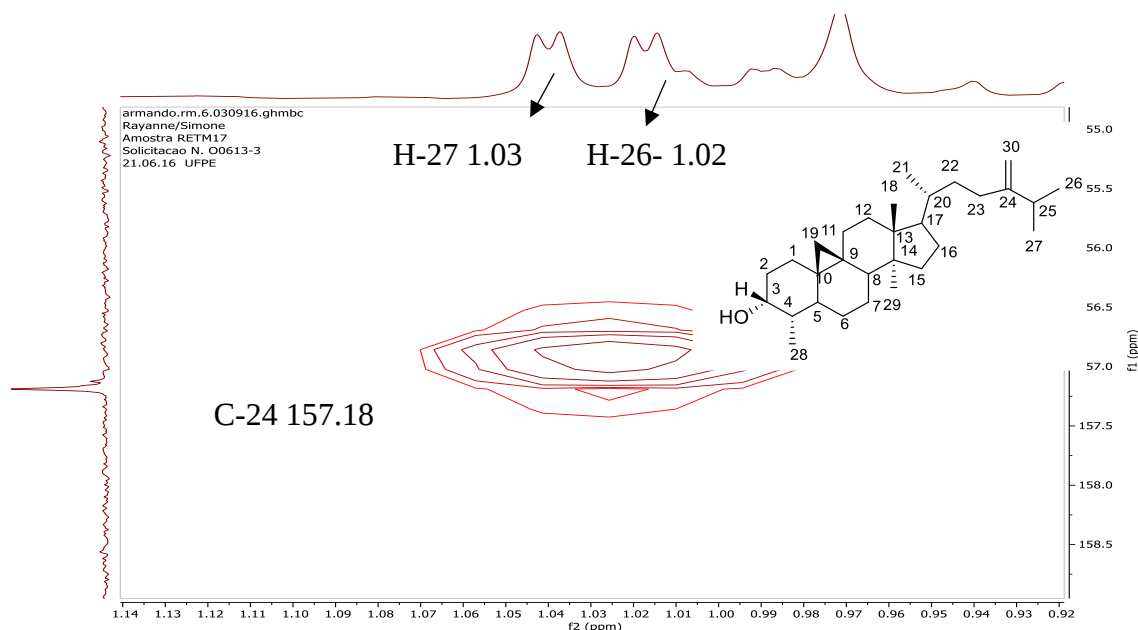
Fonte: MORENO, 2019

Figura 62– Expansão do espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6



Fonte: MORENO, 2019

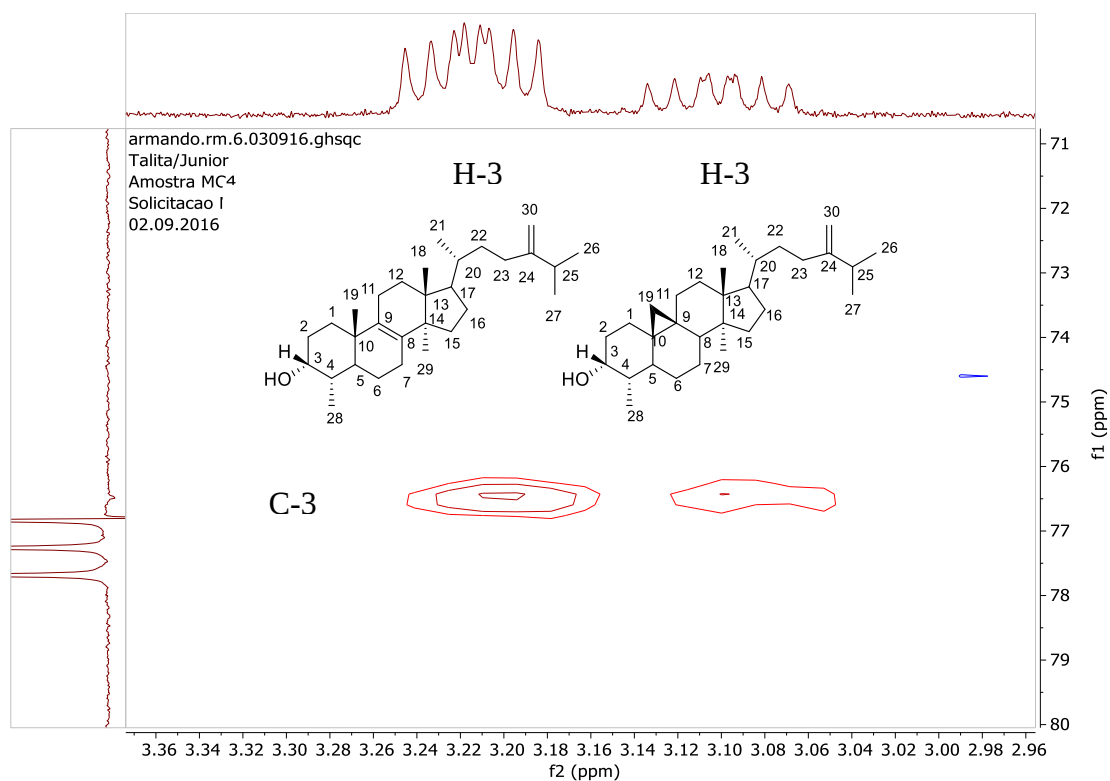
Figura 63– Expansão do espectro de RMN HMBC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6



Fonte: MORENO, 2019

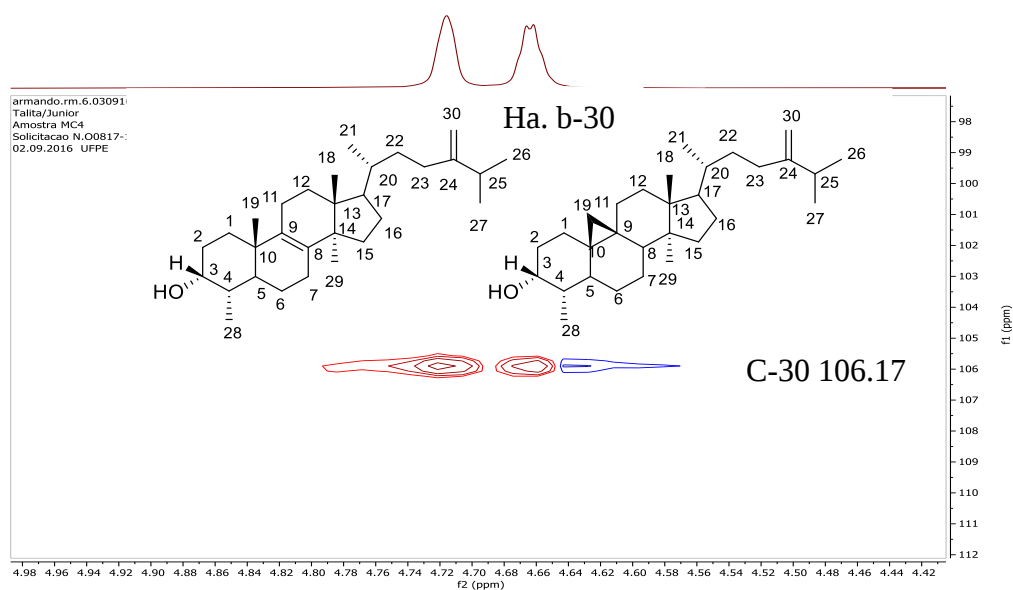
Espectroscopia de correlação heteronuclear de um único quantum (HSQC) também apresenta as correlações na Figura 64, entre prótons ressonantes a 3,22 ppm e C-3 (76,79 ppm). Prótons ressonantes a 4,66 e 4,71 ppm ambos dão $^1\text{JC-H}$ com a ressonância do deslocamento do ^{13}C a 106,17 ppm mostrado no espectro de HSQC na Figura 65, baseando-se apenas no deslocamento químico, essas estruturas são claramente estruturas de metileno terminais. Correlações do HSQC da Figura 66 indica que esses prótons ($^1\text{H} = 2,23$ ppm) são diretamente ($^1\text{JC-H}$) acoplados à ressonância ^{13}C a 34,0 ppm (C-25). Assim, a estrutura do composto 2 poderia ser designada como cicloeucalenol, e se converte em um triterpenoide do tipo cicloartano reportado pela primeira vez na resina de *Myracrodruon urundeuva*.

Figura 64– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6



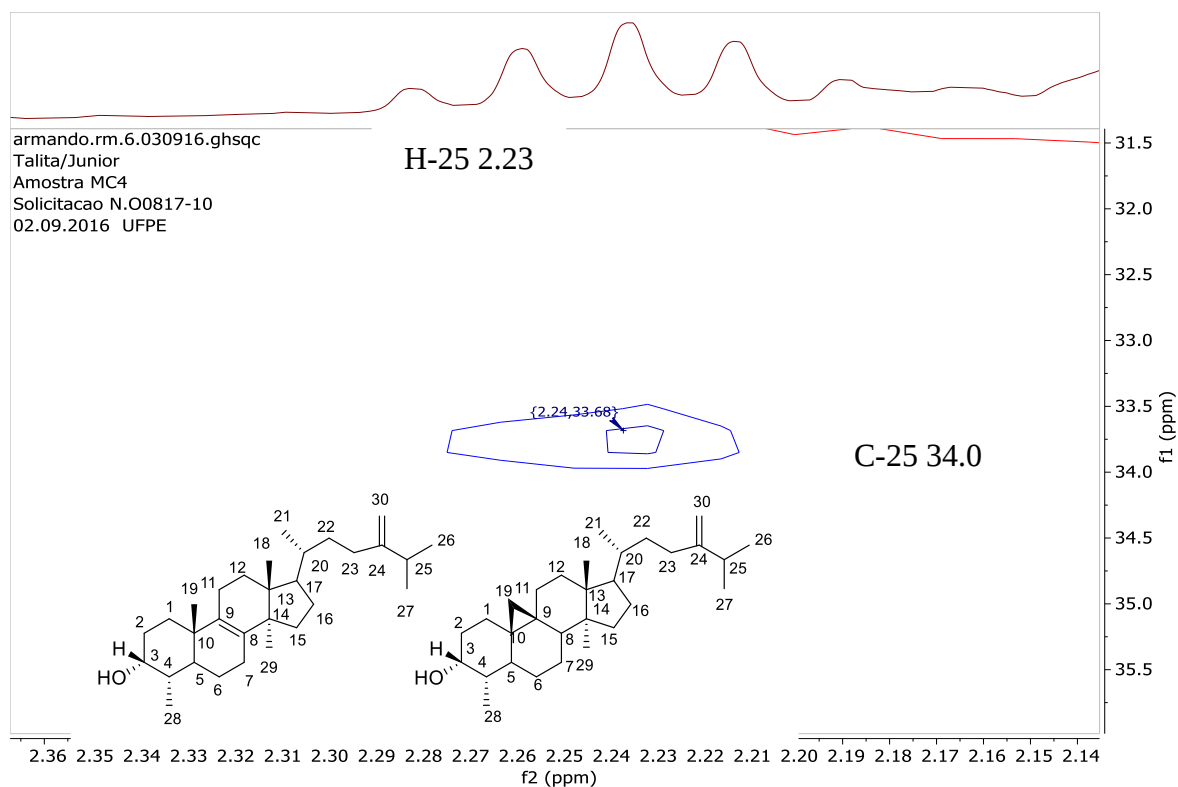
Fonte: MORENO, 2019

Figura 65– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6



Fonte: MORENO, 2019

Figura 66– Expansão do espectro de RMN HSQC (^1H 400 MHz CDCl_3 ^{13}C 100 MHz) da mistura RA H6



Fonte: MORENO, 2019

Tabela 32– Dados de RMN RA H 6 Obtusifoliol (3) (¹H NMR 400 MHz, (CDCl₃; 7.26 ppm e 77.0 ppm de RMN ¹³C)

No	Literatura CDCl ₃	δC Experimental 75 MHz CDCl ₃	APT	δH literatura CDCl ₃ 400 MHz	δH experimental	COSY	HMBC 2J	HMBC 3J
C-1	35,0	35,06	CH ₂					
C-2	31,1	31,22	CH ₂					
C-3	76,5	76,48	O-CH	2,96 (1H, ddd, J= 4,8, 10,0, 14,8 Hz)	δ 3,10 (ddd, J = 11,4, 9,7, 4,8 Hz).	H-28		H-28
C-4	39,2	39,46	CH					
C-5	47,0	47,14	CH					
C-6	20,7	20,97	CH ₂					
C-7	28,2	28,37	CH ₂					
C-8	133,6	133,84	C					
C-9	134,6	134,88	C					
C-10	36,4	36,58	C					
C-11	21,8	22,01	CH ₂					
C-12	25,5	25,72	CH ₂					
C-13	44,6	44,7	C					
C-14	49,9	50,10	C					
C-15	31,3	31,31	CH ₂					
C-16	31,0	31,04	CH ₂					
C-17	50,4	50,64	CH					
C-18	15,7	15,9	CH ₃	0,55 (3H, s, H-18)	δ 0,54 (s, 3H).			
C-19	18,7	18,59	CH ₃	0,82 (3H, s, H-19),	δ 0,83 (s, 3H).			
C-20	36,5	36,75	CH					
C-21	18,2	18,05	CH ₃	0,85 (3H, d, J= 6,4 Hz, H-21)	δ 0,85 (d, J = 4,1 Hz, 3H).			
C-22	35,0	35,24	CH ₂					
C-23	30,8	29,96	CH ₂					
C-24	156,9	157,12	C					
C-25	33,8	34,0	CH					
C-26	21,9	22,12	CH ₃	0,88 (3H, d, J= 6,8 Hz, H-26)	δ 0,89 (d, J = 2,4 Hz, 3H).	H-25, H27	H-25	H-27
C-27	22,0	22,05	CH ₃	0,89 (3H, d, J= 6,8 Hz, H-27)	δ 0,89 (d, J = 2,4 Hz, 3H).	H-25, H26	H-25	H-26
C-28	15,1	15,32	CH ₃	0,74 (3H, s, H-28)	δ 0,71 (s, 3H).	H-3		H-3
C-29	24,4	24,68	CH ₃	0,79 (3H, d, J= 6,4, H-29)	δ 0,81 (s, 3H).			
					4,71 (s, 1H), 4,66 (d, J = 1.5 Hz, 1H).			
C-30	105,9	106,17	CH ₂	δH 4,56 and 4,51 (each 1H, br s, H-30 a, b)				H-25

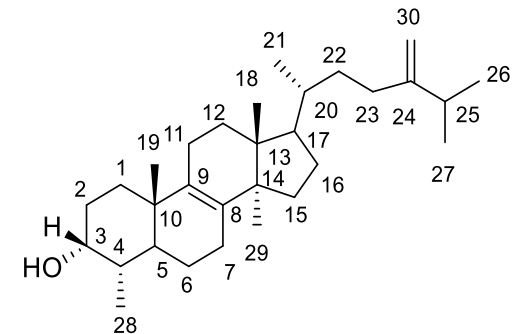
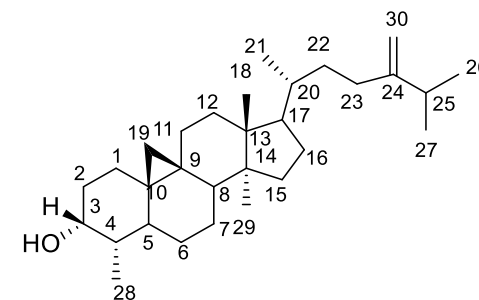


Tabela 33– Dados de RMN RA H 6 α -Cicloeucalenol (4) (^1H NMR 400 MHz, (CDCl_3 ; 7,26 ppm e 77,0 ppm, 75 MHz RMN ^{13}C)

No	CDCl_3 Literatura	δC Experimental	APT	δH literatura CDCl_3	δH experimental	COSY	HMBC 2J	HMBC 3J
C-1	30,88	31,04	CH2	1,550 td (12,5, 3); 1,283 dt (12,5, 3,5)				
C-2	34,90	34,91	CH2	1,983 ddt (11, 5, 3); 1,423 dtd (13, 11, 3,5)				
C-3	76,64	76,79	O-CH	3,213 ddd (10,5, 9, 4,5)	δ 3,22 (ddd, J = 10,6; 8,9; 4,7 Hz, 1H)	H11; H-4		H-28
C-4	44,69	44,84	CH	1,16 m				
C-5	43,43	43,53	CH	1,206 td (10,5, 4,5)	δ 1,19 (td,).			
C-6	24,73	24,92	CH2	1,678 dtd (12,5; 4,5; 3,5); 0,585 qd (12,5; 3)				
C-7	25,22	25,42	CH2	1,055 qd (12,5, 3,5); 1,309 dtd (13, 5, 3,5)	δ 1,03 (dd,). 1H δ 1,30 (dtd)			
C-8	46,90	46,89	CH	1,583 dd (12, 5)				
C-9	23,64	23,80	C					
C-10	29,65	29,62	C					
C-11	27,08	27,52	CH2	1,204 ddd (15, 8, 6,5); 1,969 ddd (15, 9, 7)				
C-12	32,99	33,13	CH2	1,64 dd (9, 7)				
C-13	45,45	45,60	C					
C-14	49,00	49,15	C					
C-15	35,42	35,59	CH2	1,30 m				
C-16	28,18	28,21	CH2	1,30 m				
C-17	52,31	52,46	CH	1,92 m	δ 1,92 (m, 1H).			
C-18	17,84	18,47	CH3	0,970 s	δ 0,97 (s).			
C-19	27,28	27,23	CH2	α -0,143 d (4); β - 0,387 br d (4)	δ 0,14 (d,4.1 Hz,); 1H δ 0,39 (d,4,1 Hz,).			
C-20	36,21	36,38	CH	1,40 m	δ 1,41 (m, 1H).			
C-21	18,42	18,98	CH3	0,898 d (6,5)	δ 0,89 (d).			
C-22	35,13	35,06	CH2	1,13 dddd (13, 11,5, 9, 5); 1,57 dddd (13, 11,5, 6, 3,5)				
C-23	31,41	31,41	CH2	1,890 ddd (14,5; 11,5; 5,5); 2,124 ddd (15, 11,5, 5)				
C-24	156,89	157,18	C					
C-25	33,90	34,00	CH	2,233 septet (7)	δ 2,24 (septet, J = 6,8 Hz).		H-26, H-27	H-30
C-26	22,06	22,25	CH3	1,026 d (7)	δ 1,02 (d)	H-25, H-27	H-25	H-27
C-27	21,94	22,12	CH3	1,031 d (6,7)	δ 1,03 (d)	H-25, H-26	H-25	H-26
C-28	14,46	14,40	CH3	0,980 d (7)	δ 0,99 (d, J = 7 Hz).	H-3		H-3
C-29	19,21	19,38	CH3	0,893 s	δ 0,89 (s).	H-4, H5		
					4,71 (s, 1H), 4,66 (d, J = 1.5 Hz, 1H).			H-25
C-30	106,05	106,17	CH2	4,662 br d (1); 4,714 br s				



KIKUCHI, Tohru; KADOTA, Shigetoshi; TSUBONO, Koji. Studies on the Constituents of Orchidaceous Plants. IV.: Proton and Carbon-13 Signal Assignments of Cycloeucalenol-Type Triterpenes from *Nervilia purpurea* SCHLECHTER by Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Chemical and pharmaceutical bulletin, v. 34, n. 6, p. 2479-248

Fonte: MORENO, 2019

4.4.4.5 Análise por cromatografia gasosa da mistura RA H6 obtida da fração hexânica da resina Myracrodruon urundeuva

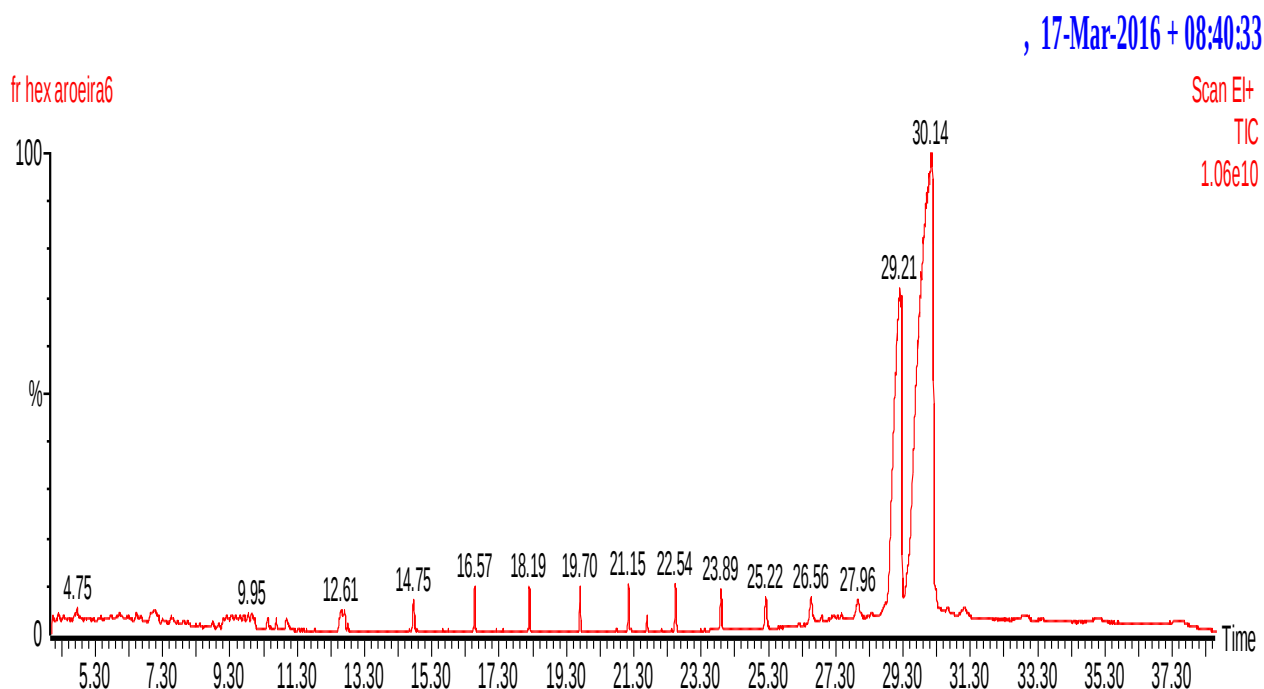
Também da parte da fração hexânica (300 mg) que foi submetido a cromatografia em coluna sobre gel de sílica com gradiente de n-hexano-acetato de etilo (9:1) no EPCLC AI-580S produziu 30,0 mg para um 10,0 % de rendimento de uma substância, como mostrado na Figura 67 na cromatografia em camada delgada (CCD). Para o desenvolvimento da placa foi usado como solventes hexano/acetato (9:1), quando a mancha envolvida no processo cromatográfico não foi possível de visualizar, usou-se a técnica de aquecer a placa até o surgimento de mancha. RA H6 foi obtido como pó amorfo branco, solúvel em diclorometano; $R_f = 0,49$ e deu teste positivo ao reagente de Lieberman-Buchard indicando um esqueleto triterpenoide e / ou esteroide. Quando injetada no cromatógrafo gasoso apareceu dois picos principais no cromatograma como é mostrado na Figura 68

Figura 67– Cromatografia em camada delgada (CCD) de RA H6 corado com reagente de Libermann



Fonte: MORENO, 2019

Figura 68– Cromatograma gasoso de RA H6



Fonte: MORENO, 2019

O cromatograma (Figura 68) para a fração hexânica da resina de RA H6 por sugestão da biblioteca NIST (Tabela 34) do sistema propõe dois constituintes triterpenóides esteroidais: cicloeucalenol (4) e Obtusifoliol (3) (Figura 73), podendo ser relatado pela primeira vez em resina da aroeira *Myracrodruon urundeuva*. O primeiro pico significativo que apareceu aos 29,21 minutos foi identificado como obtusifoliol (4,14-dimetil-5-ergosta-8,24 (28) -dien-3-ol). O componente possuindo um tempo de retenção de 30,14 min, foi identificado como cicloeucalenol (4,14-dimetil-9,19-ciclo-5-ergost-24 (28) -en 3-ol). Isolamento e purificação não foram possíveis devido à presença de estruturas semelhantes na mistura.

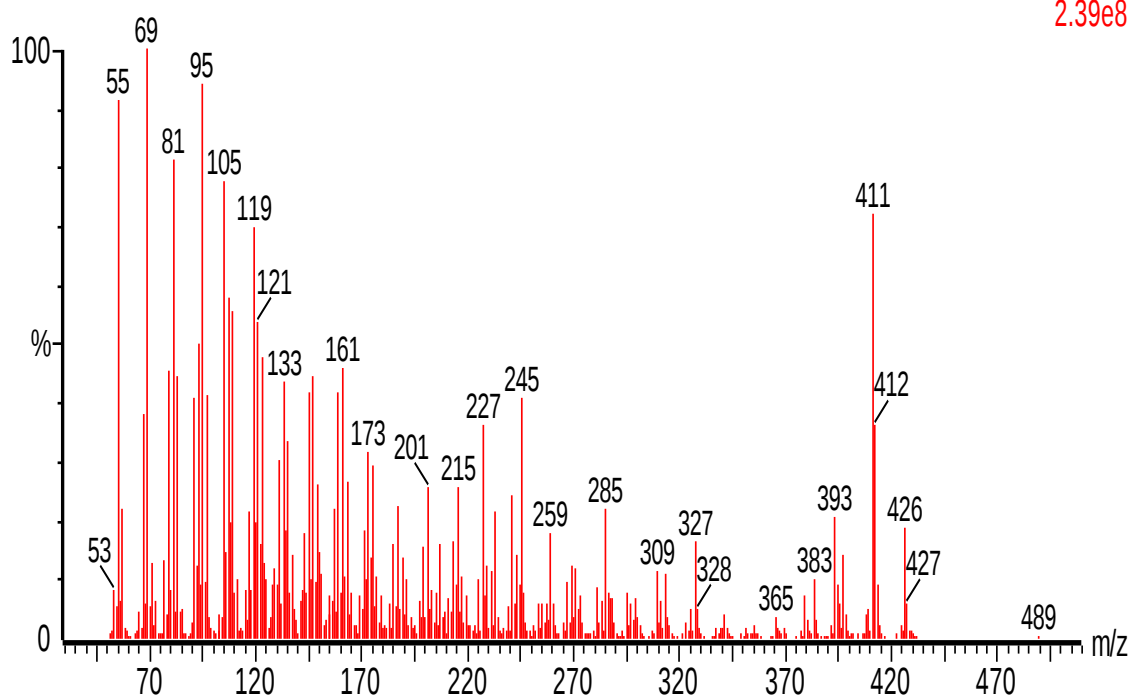
O composto 4 apresentou uma massa molecular de 426 $[M]^+$, o espectro de massa (Figura 69) mostra fragmentações característicos em 411 $[M-CH_3]^+$, 393 $[M-CH_3H_2O]^+$, 259 $[cadeia\ lateral\ M-C_3H_6]^+$, 245 $[cadeia\ lateral\ M-C_4H_8]^+$ e fragmento base (100 %) 69 $[M-C_5H_9]^+$ e 69 $[CH_2=C. CH-2(Me)]^+$ que foram semelhantes para obtusifoliol e cicloeucalenol.

Figura 69– Espectro de massa GC de Obtusifoliol (1), pico Tr = (29,21)

, 17-Mar-2016 + 08:40:33

fr hex aroeira6 5042 (29.218)

Scan EI+
2.39e8



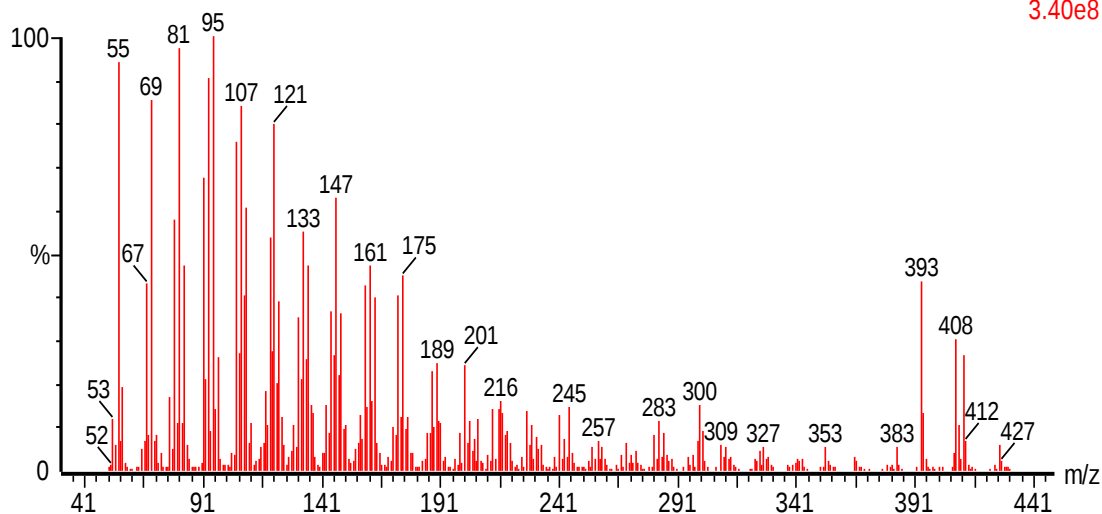
Fonte: MORENO, 2019

Figura 70– Espectro de massa CG para cicloeucalenol (2). Pico Tr = 30,14

, 17-Mar-2016 + 08:40:33

fr hex aroeira6 5227 (30.144)

Scan EI+
3.40e8



Fonte: MORENO, 2019

O espectro de massa de **5** (Figura 70) foi muito semelhante ao de **4**, a estrutura **5** foi sugerida por NIST como cicloeucalenol. O espectro mostra picos característicos m/z 427 $[M+1]$; 412 $[M-CH_3]^+$, 95 $[M-C_7H_{11}]$ e 69 $[M-C_5H_9]$. O resultado obtido do cromatograma também foi consultado com a base de dados conforme sugestão da biblioteca NIST do sistema e mostrado na Tabela 34, foram analisados todos os picos do cromatograma como possíveis substâncias a encontrar na mistura, coincidindo com os propostos por RMN.

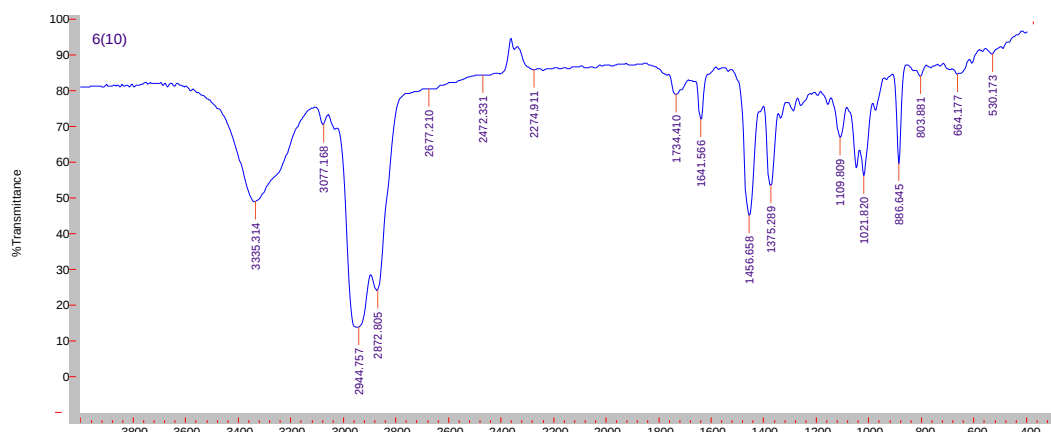
Tabela 34– Proposta da NIST de RA H6

Pico	Tr(min)	FM	M.+	% A	Proposta do composto	Prob (%)
1	29.21	C ₃₀ H ₅₀ O	426	25.43	Obtusifoliol	38.3
2	30.14	C ₃₀ H ₅₀ O	426	68.61	Cicloeucalenol	33.6

Fonte: MORENO, 2019

Os principais grupos funcionais de RA H6 foram identificados empregando-se a espectrometria no infravermelho. Na Figura 71 está representado os espectros de absorção no infravermelho de RA H6. É possível também verificar que apresento banda de absorção na região de 3335 cm^{-1} , deformação axial O-H, 3307 cm^{-1} e 16401 cm^{-1} próprias de deformação axial C=C, ou as bandas de 1641 cm^{-1} e 886 cm^{-1} , também podem ser indicativas de um grupo metileno exocíclico; 2944 cm^{-1} e 2872 cm^{-1} deformação axial em estruturas alifáticas, 1456 cm^{-1} deformação angular de CH₂ e CH₃, é encontrado bandas de pouca intensidade a 1734 cm^{-1} que poderia ser atribuída a deformação axial de C=O, só que não é encontrado deslocamento químico de carbono em RMN para esse grupo.

Figura 71– Espectro de IV de RA H6



Fonte: MORENO, 2019

4.4.4.6 UPLC-PDA-QTOF-MS/MS Mistura RA H6 positivo

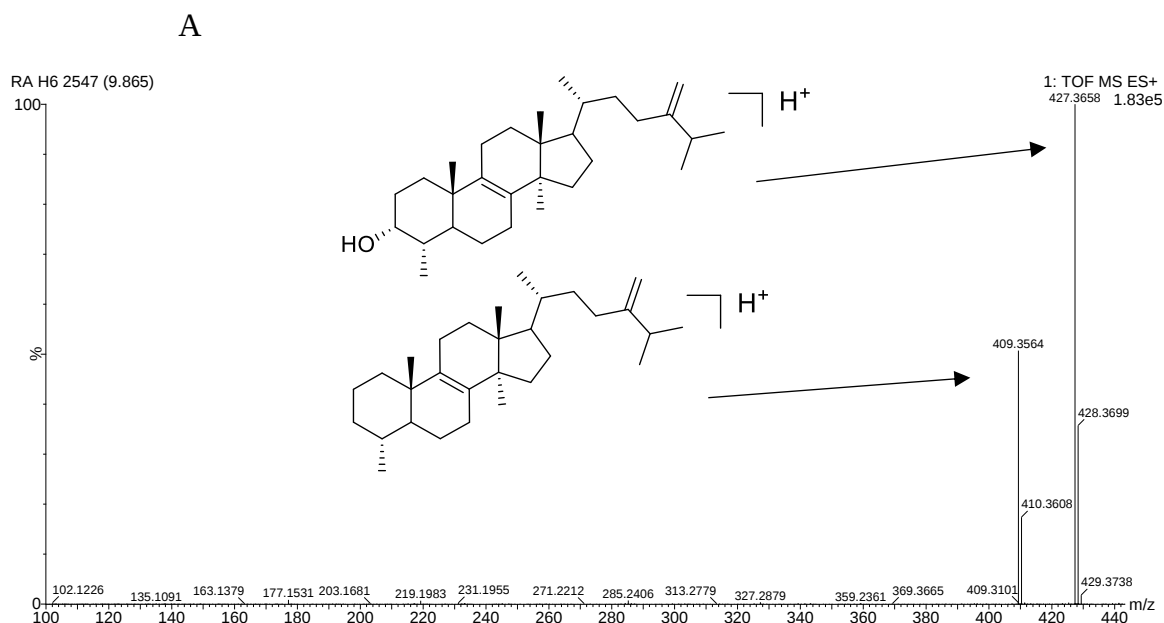
Para RA H6 também foi usada a espectrometria de massa em tandem de ionização por eletrospray (UPLC-PDA-QTOF-MS/MS) como descrito para RA H3 obtendo-se o cromatograma e os dados das massas obtidas (Tabela 35) foram consultados na base de dados METLIN (<https://metlin.scripps.edu/>), obtendo-se como proposta os mesmos proposto por RMN mostradas as estruturas na Figura 73. Espectros de massas e mostrado na Figura 72.

Tabela 35– Resultado da análise do cromatograma de RA H6 obtido da fração hexânica do extrato etanólico da resina de *Myracrodruon urundeuva*

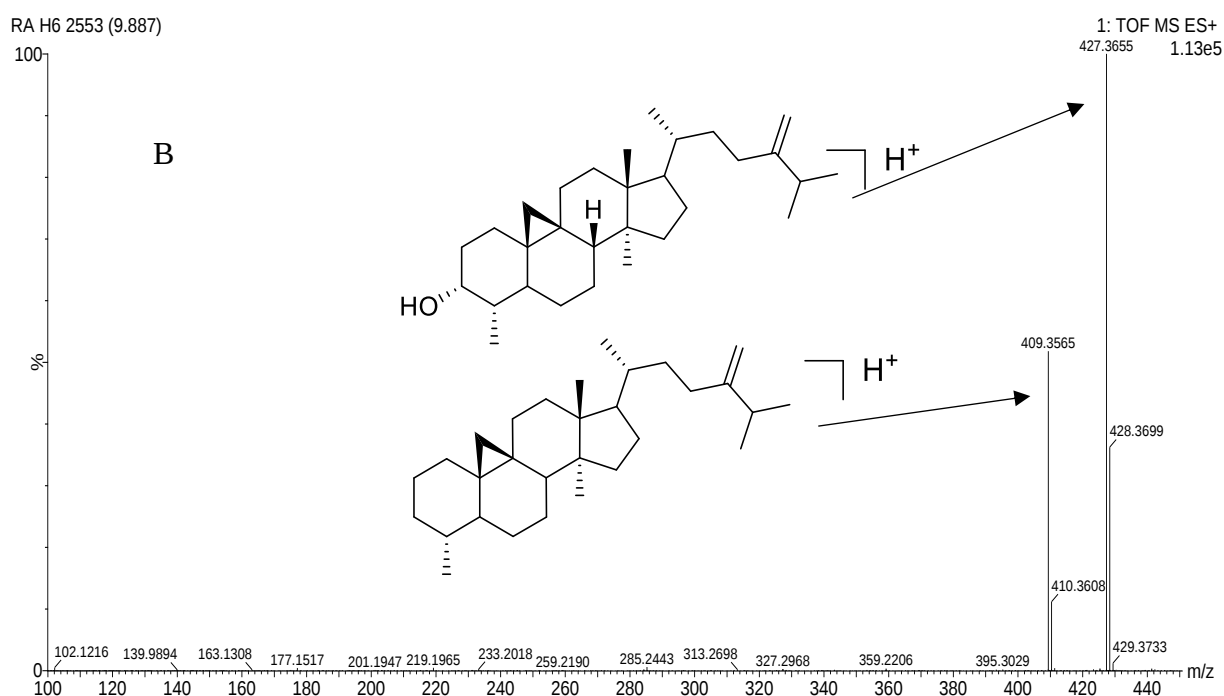
P	$\lambda_{\text{máx}}$	$[M+H]^+$	Calculada	Fragmentos	Proposta
1	226	$[M+H]^+$, 427,3940	427,3934;	$M-H-H_2O]^+$, 409,3837	obtusifoliol
2	224	$[M+H]^+$, 427,3923	427,3934;	$[M-H-H_2O]^+$, 409,3835	cicloeucalenol

Fonte: MORENO, 2019

Figura 72– Espectros de massa UPLC-DAD-QTOF-MS/MS modo positivo dos compostos isolados RA H6, Obtusifoliol A (1), cicloeucalenol B (2)

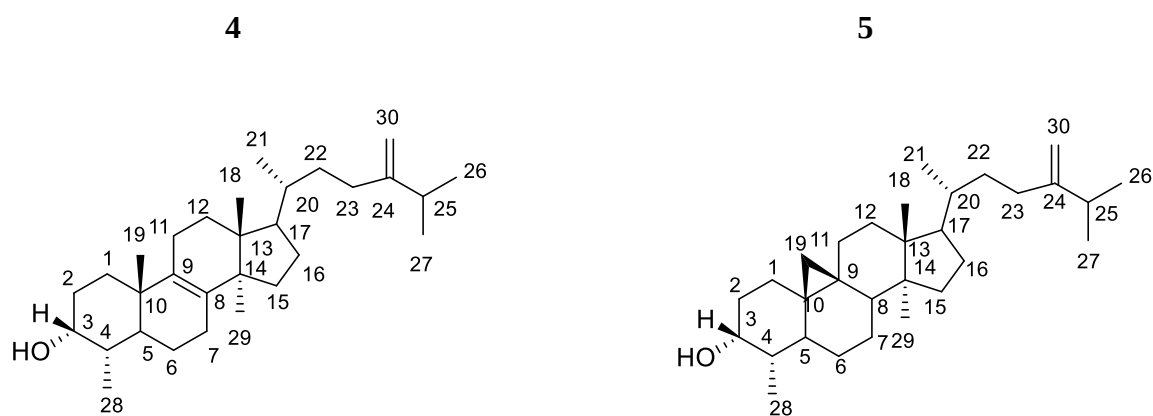


Fonte: MORENO, 2019



Fonte: MORENO, 2019

Figura 73– Proposta das substâncias isoladas RA H6 obtusifoliol (4) e (5) cicloeucalenol

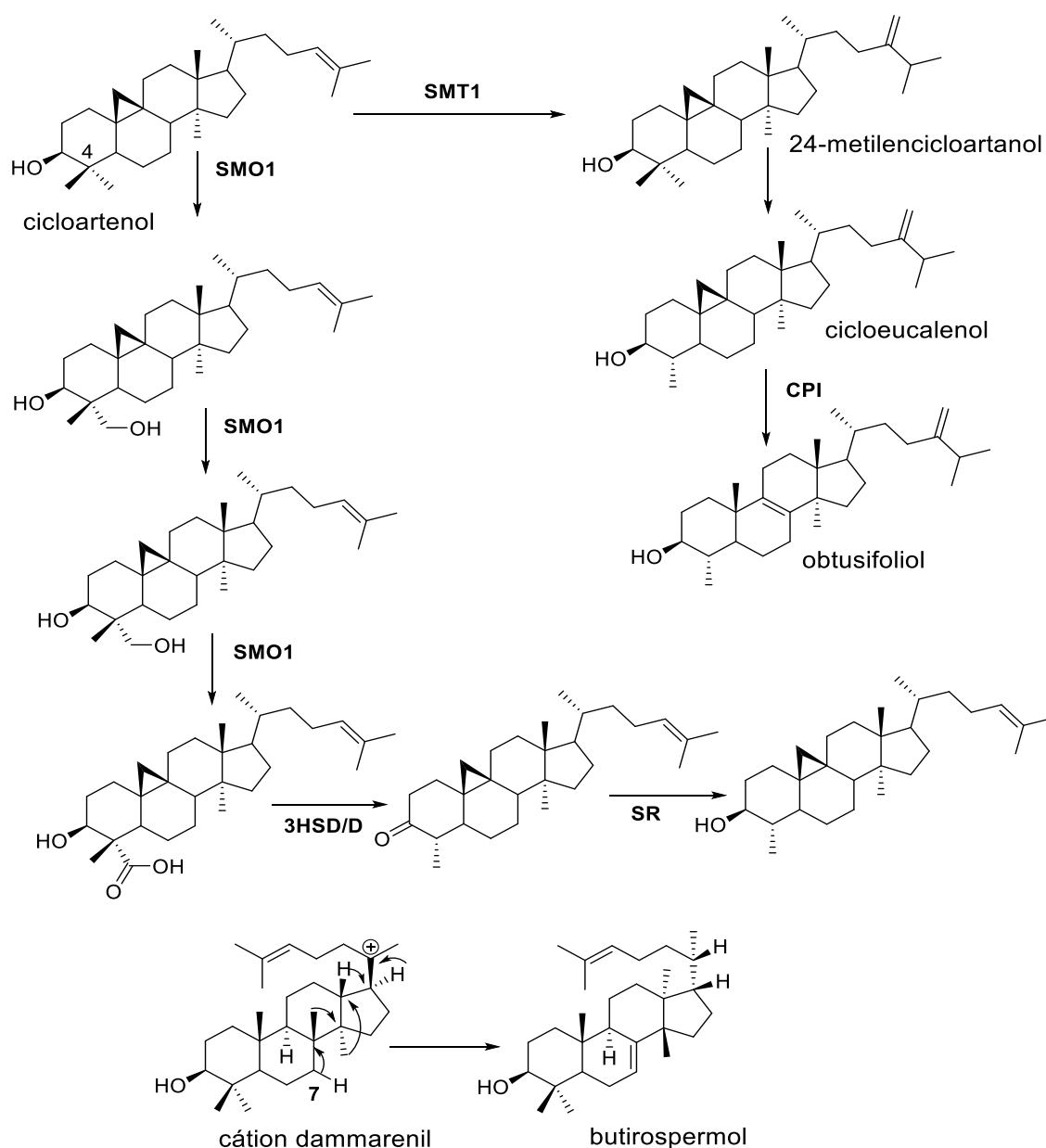


Fonte: MORENO, 2019

Os compostos das misturas RA H3 e RA H6 isolado, na rota biossintética eles podem ser obtidos pelo processo de desmetilação do carbono quatro (C4). Nas plantas, existem reações distintas de desmetilação C4 implicadas em reações não consecutivas na rota biossintética, uma desmetilação em C4 aplica-se por exemplo a 24-metilencicloartanol que se transforma em cicloeucalenol. A conversão de triterpeno-esterol implica a remoção oxidativa de metila em C4. Por outro lado, butirospermol é formado a partir de um cátion dammarenil através de dois

rearranjos de dois e dois grupos metila e uma desprotonação final de C-7 (Figura 74) (MANDER; LIU, 2010).

Figura 74– O processo de desmetilação C4 e rearranjo do cátion dammarenil segundo Mander et al., (2010)



cicloxartenol C-24-metiltransferase (SMT1)

ciclopropil isomerase (CPI)

4-carboxisterol-3-hidroxiesteróide-C4-descarboxilase (3HSD/D)

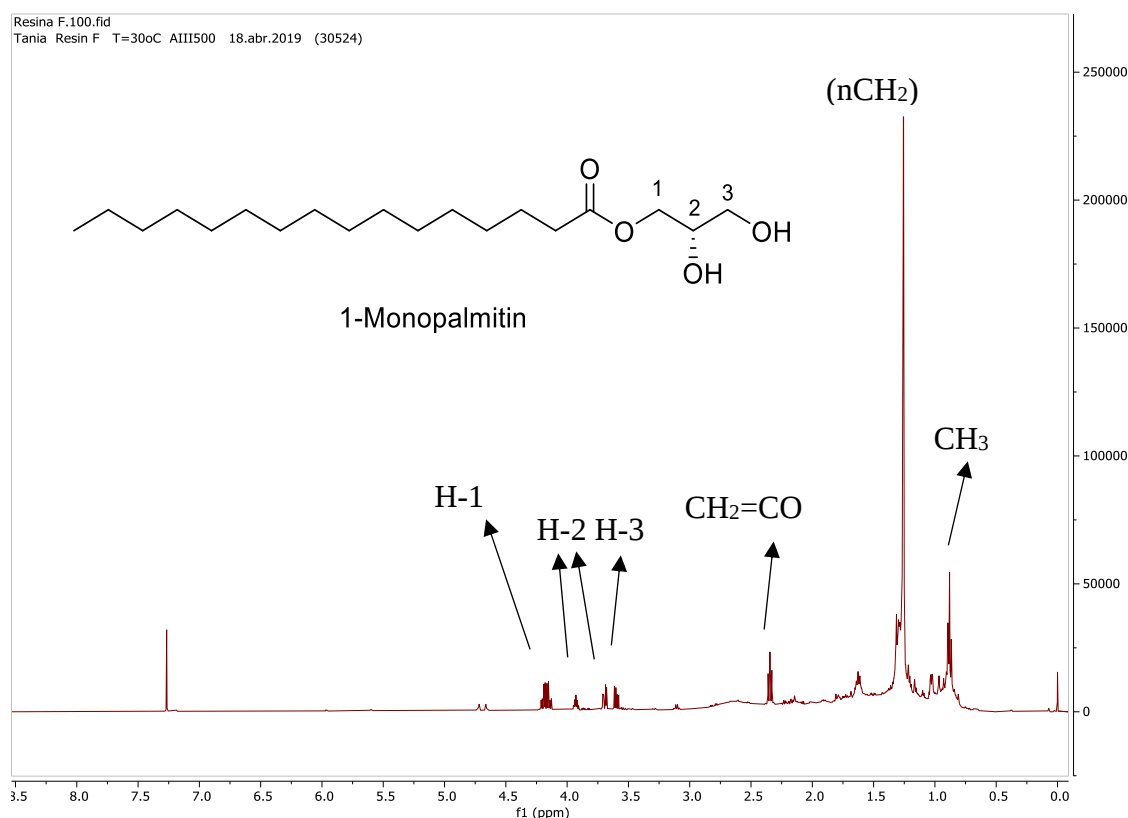
esterol-4-metil-oxidase (SMO)

redutase da esterona (SR)

4.4.4.7 Análise de F por técnicas espectroscópicas

Uma parte da fração hexânica (1 g) que foi submetido a cromatografia em coluna sobre gel de sílica com gradiente de n-hexano-acetato de etilo no EPCLC AI-580S produziu 56,0 mg para um 5,6 % de rendimento. A identificação da mistura F foi realizada pela análise de RMN de ^1H , ^{13}C APT, os espectros são mostrados na Figura 75 e Figura 76 respectivamente.

Figura 75– Espectro de RMN ^1H (500 MHz CDCl_3) da mistura F

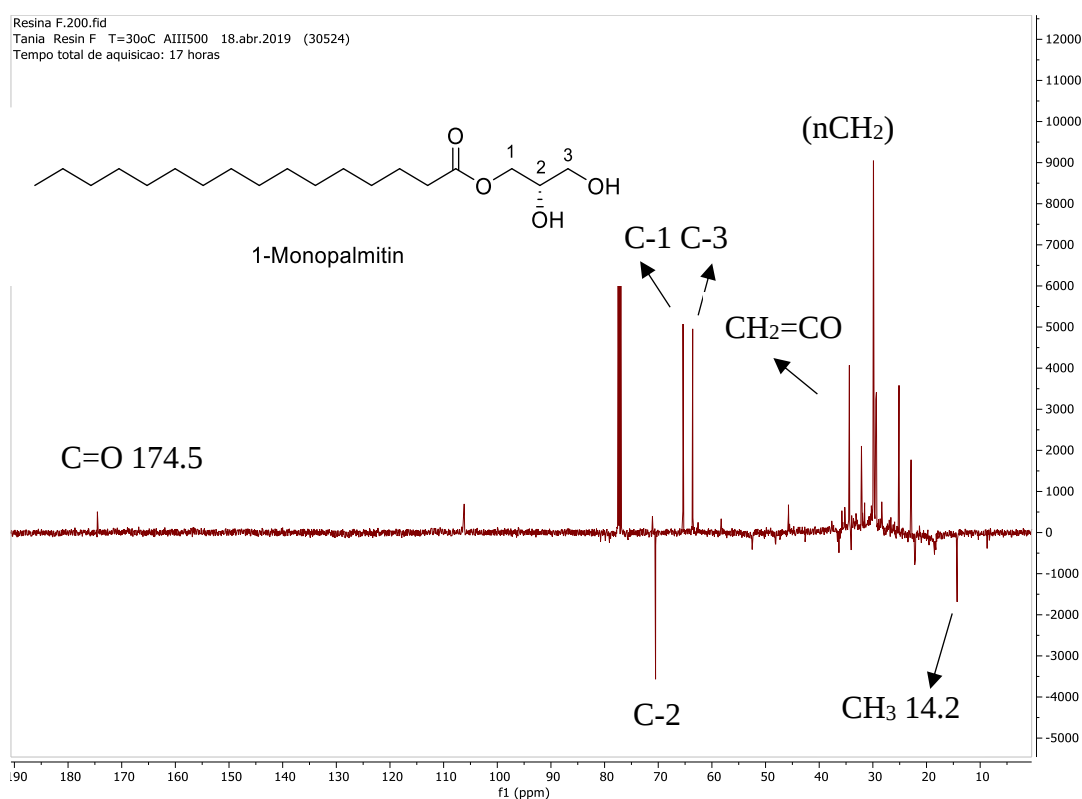


Fonte: MORENO, 2019

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 75) sugeriu a presença de um éster carbonílico 174,5 ($\text{CH}_2\text{-CO}_2$) como também encontrados os sinais de carbono 65,3 (C-1), 70,2 (C-2) e 63,3 (C-3). Os sinais dos prótons (Figura 75) 4,20 (1H, dd, H-1a), 4,15 (1 H, dd, H-1b), 3,93 (1H, tt, H-2), 3,69 (1H, dd, H-3a) e 3,60 (1H, dd, H-3b), todos são característicos de um monoglicerídeo e sugere-se como 1-monopalmitin (6), todos os deslocamentos dos prótons e carbono são mostrados na Tabela 36, de acordo com a literatura (HERNÁNDEZ-GALICIA et al., 2007). Também os resultados foram analisados e comparados com a literatura (HATZAKIS et al., 2011; KONISHI et al., 2004; NURMALA et al., 2018; TSUZUKI et al., 1995; WANG

et al., 2013). Entre tanto também foram comparados os deslocamentos de carbono e prótons e o alfa D de 1-monopalmitin para o estereoisomero (R) no único carbono quiral 2 reportando $[\alpha]^{25}_D = -6,52^0$ ($c = 0,015$, em clorofórmio) (SINGH; SHARMA; SINGH, 2010), sendo que o alfa D de F obtido experimentalmente foi $[\alpha]^{25}_D = + 14.29^0$ ($c = 0.07$ g / mL em clorofórmio) pelo tanto o composto isolado tem sugestão o (S)-1-monopalmitin (6) Figura 83.

Figura 76– Espectro de RMN ^{13}C (APT 125 MHz CDCl_3) da mistura F



Fonte: MORENO, 2019

Tabela 36– Dados RMN de 1-monopalmitin

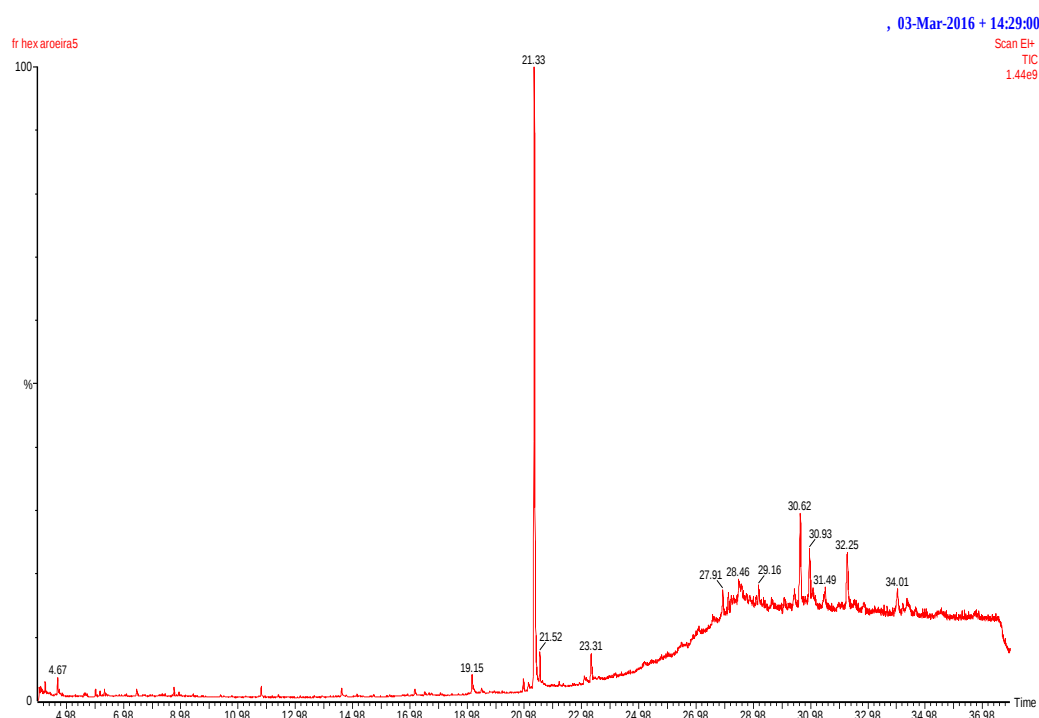
^{13}C δ (ppm) Literatura (CDCl_3) 75 Mz	^{13}C δ (ppm) Experimental (CDCl_3) 126 MHz	^1H δ (ppm) Literatura (CDCl_3 / TMS0 300 Mz)	^1H δ (ppm) Experimental (CDCl_3) 500 Mz
1 14,1	14,2	0,88 (3H, t, J= 7,2 Hz CH ₃)	0,88 (t, J = 6.8 Hz, 3H)
2 29,6 (nCH ₂)	29,6	1,25 (br s, nCH ₂)	1,26 (br s, nH)
3 34,1	34,3	2,33 (2H, t, J= 7,5 Hz, -CH ₂ -CO ₂)	2,35 (t, J = 7.6 Hz, 2H)
4 63,3 (C-3)	63,5	3,59 (1H, dd, J= 11,5; 6 Hz, H-3b),	3,60 (dd, J = 11,5; 5.9 Hz, 1H)
5 70,2 (C-2)	70,5	3,70 (1H, dd, J=11,5; 4Hz, H-3a),	3,69 (dd, J = 11,5; 4.0 Hz, 1H)
6 70,2 (C-2)	70,5	3,93 (1H, m, H-2)	3,93 (tt, J = 5,9; 4.2 Hz, 1H)
7 65,1 (C-1)	65,3	4,14 (1H, dd, J=11,5, 6 Hz, H-1b)	4,15 (dd, J = 11,6; 6.1 Hz, 1H)
8 65,1 (C-1)	65,3	4,19 (1H, dd, J=11,4; 4,9 Hz, H-1a)	4,20 (dd, J = 11,6; 4.7 Hz, 1Ha)
9 174,3 (CO)	174,5 (CO)		

Fonte: MORENO, 2019

4.4.4.8 Análise por cromatografia gasosa da mistura F obtida da fração hexânica da resina *Myracrodruon urundeuva*.

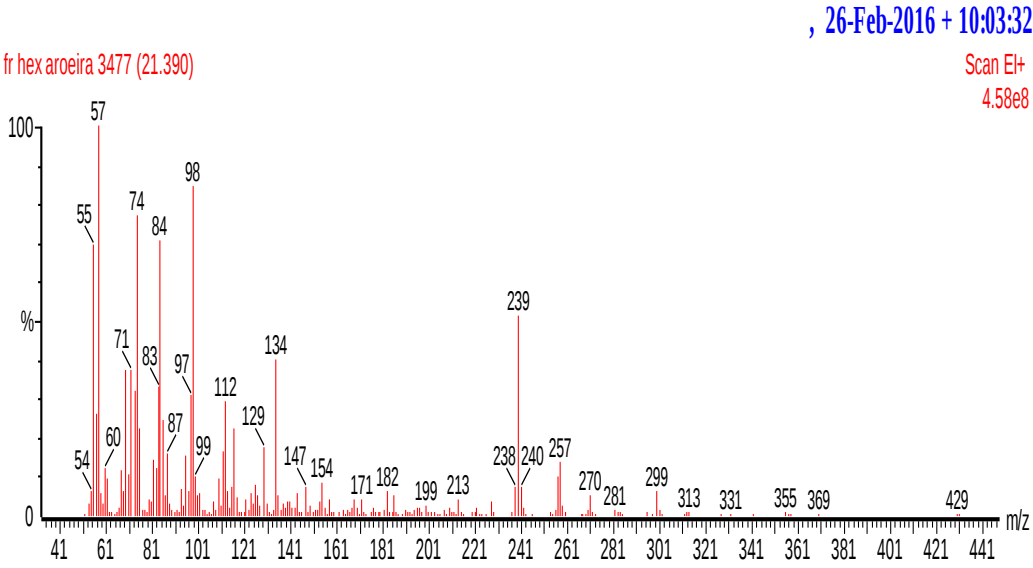
O cromatograma gasoso (Figura 77) de F pode-se observar o pico tempo de retenção 21,39 e o espectro é mostrado Figura 78, como constituinte praticamente puro e com sugestão da NIST do 2-monopalmitin com 78,5 % (Tabela 37) de probabilidade foi demonstrado por RMN que o composto é o 1-monopalmitin pelo que a técnica de CG não é o suficiente confiável para as proposta na tentativa de elucidação estrutural, de aí a importância do uso de UPLC-DAD-QTOF como técnica mais precisa e exata na tentativa de elucidação estrutural dos constituintes presentes na fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva* e das misturas isoladas, podendo o 1-monopalmitin ser relatado pela primeira vez em resina da aroeira *Myracrodruon urundeuva*.

Figura 77– Cromatograma gasoso de F



Fonte: MORENO, 2019

Figura 78– Espectro de massa de 1-monopalmitin ou 2- monopalmitin (1), pico Tr = (21,39)



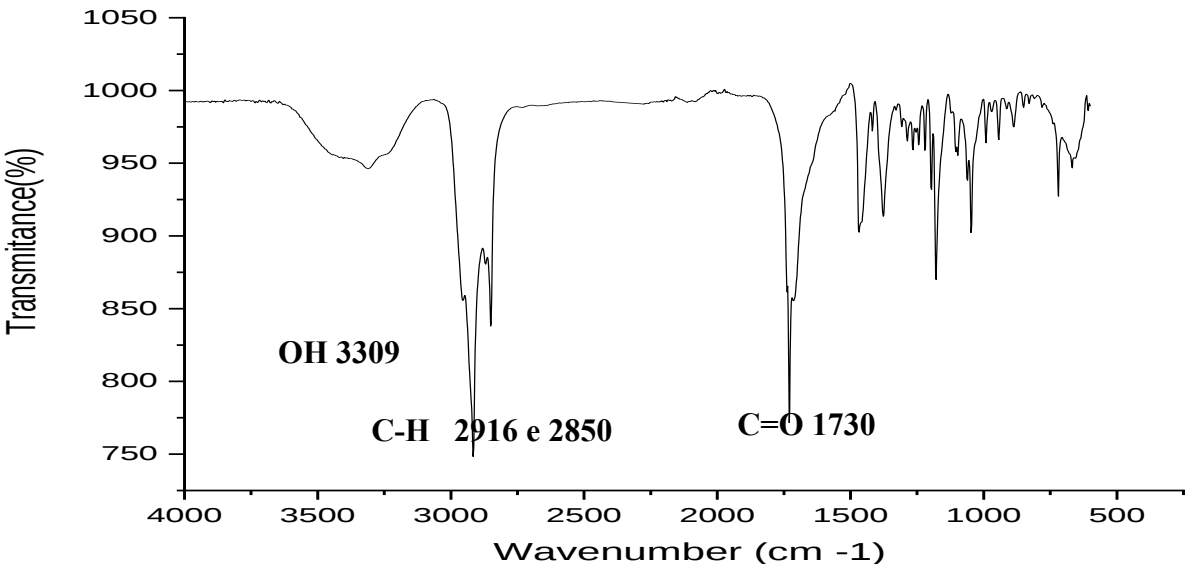
Fonte: MORENO, 2019

Tabela 37– Proposta da NIST de F

Pico	Tr(min)	FM	M+1	% A	Proposta do composto	Prob (%)
1	21,39	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	331	4,58	2-Monopalmitin	78.5
2	21,39	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	331	4,58	1-Monopalmitin	19.4

Fonte: MORENO, 2019

Figura 79– Espectro de IV de F



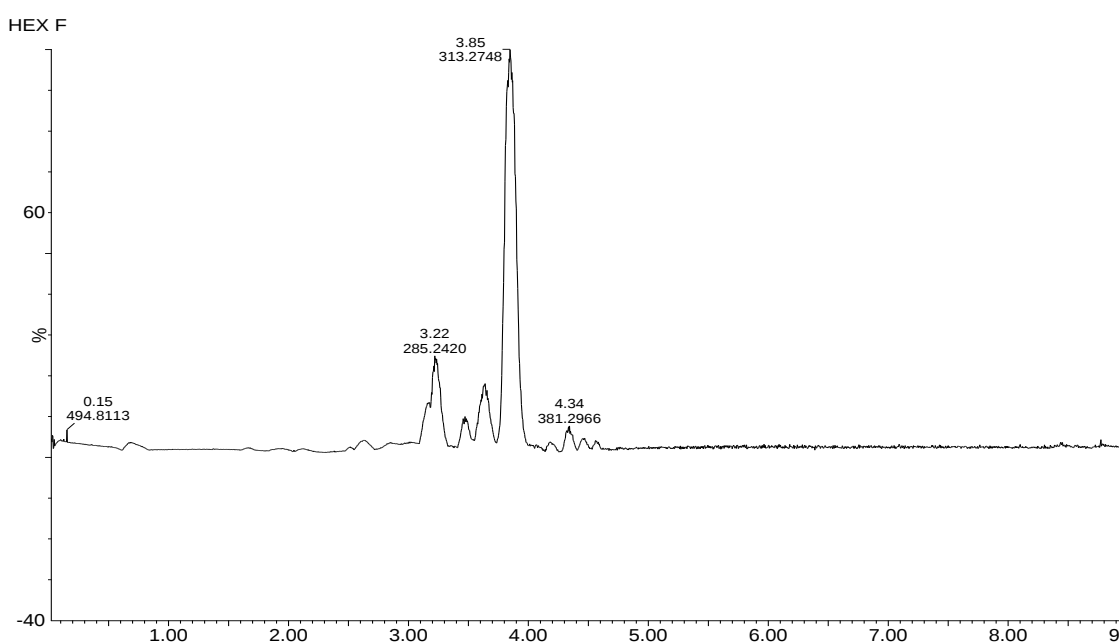
Fonte: MORENO, 2019

Os principais grupos funcionais de F foram identificados empregando-se a espectrometria no infravermelho. Na Figura 79, está representado o espectro de absorção no infravermelho, registrou-se absorções em 3309 cm^{-1} próprias de hidroxilas de álcool, também é possível verificar que F apresenta bandas, 2916 e 2850 cm^{-1} deformação axial em estruturas alifáticas, 1467 cm^{-1} deformação angular de CH_2 e CH_3 , e é encontrado banda de intensidade a 1730 cm^{-1} típica de estiramento de carbonila e comparado com a literatura (HERNÁNDEZ-GALICIA et al., 2007).

4.4.4.9 UPLC-DAD-QTOF-MS/MS Mistura F modo positivo

O cromatograma UPLC-DAD-QTOF-MS/MS Figura 80 de F pode-se observar o pico tempo de retenção 3,85 (Tabela 38) e o espectro de massas com as fragmentações Figura 81, que ioniza com aduto de sódio $[\text{M}+\text{H}+\text{Na}]^+ m/z\ 353,2662$ encontrando a massa do composto $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z\ 331,2844$ com possível rota de fragmentação Figura 82 para íons produtos com perda de água gerando o íon $m/z\ 313,3727$ com consequente perda de $-\text{CH}_2\text{OH}$ para gerar o íon produto $m/z\ 282,2559$ que estabiliza a carga do íon por rearranjo de hidrogênio formando dupla ligação, após a perda de $-\text{C}_2\text{H}_3\text{O}$ para gerar o íon produto $m/z\ 239,2369$.

Figura 80– Cromatograma de F UPLC-DAD-QTOF-MS/MS

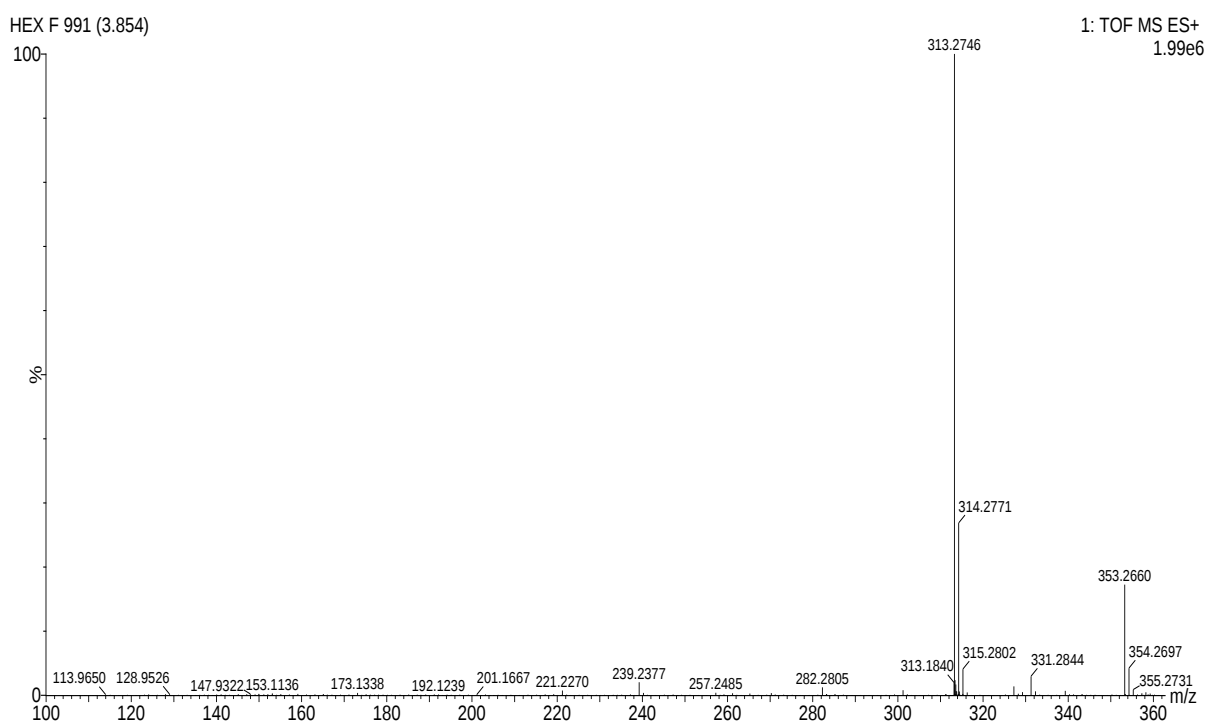


Fonte: MORENO, 2019

Tabela 38– Resultado do cromatograma de F

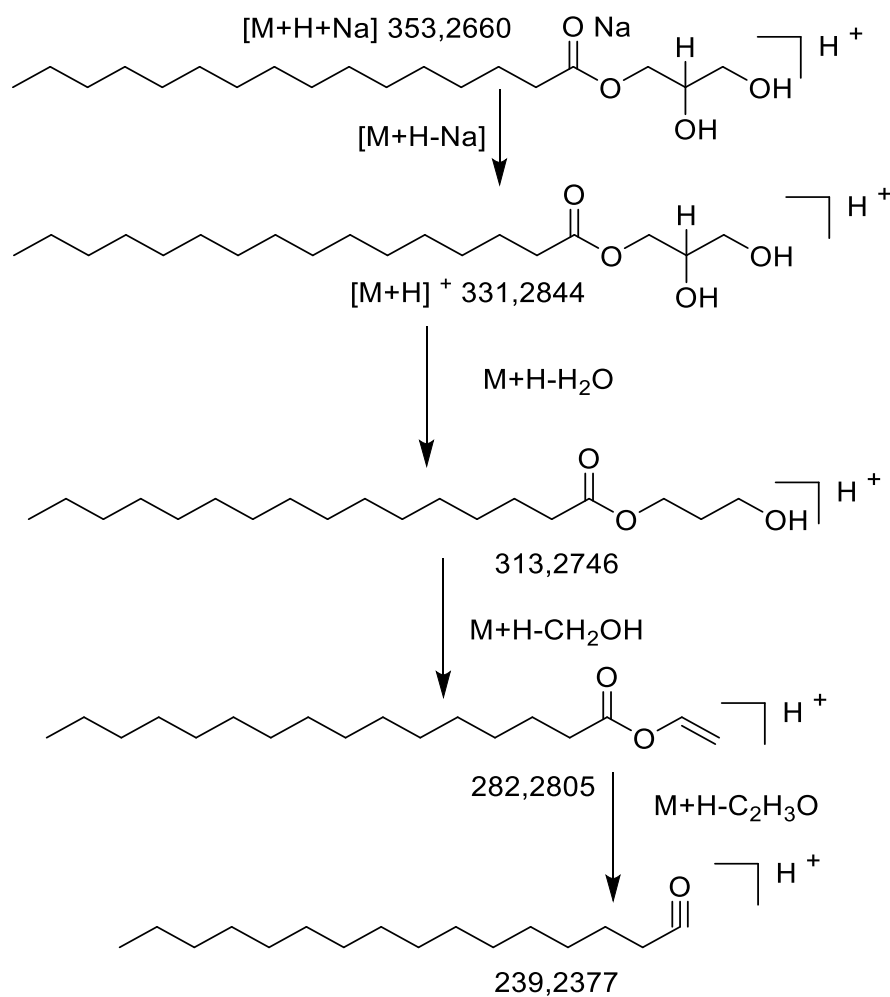
Pico	Tr (min)	[M+H] ⁺	Calculada	Íons produtos	Proposta do composto
1	3.85	331,2844	331,2843	[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 313,2727; [M+H CH ₂ OH] ⁺ ; 282,2559	1-Monopalmitin

Fonte: MORENO, 2019

Figura 81– Espectro de massa de 1-monopalmitin UPLC-DAD-QTOF-MS/MS de F [M+H]⁺

Fonte: MORENO, 2019

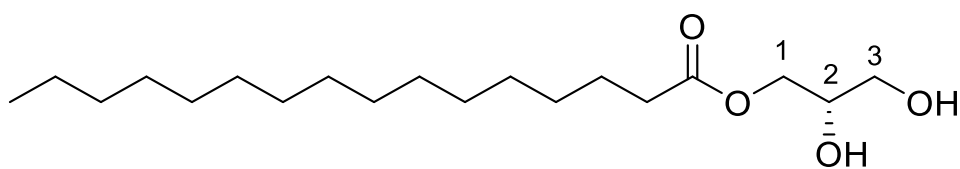
Figura 82– Proposta da fragmentação íons produtos de (+) 1-monopalmitin (6)



Fonte: MORENO, 2019

Figura 83– Proposta do composto isolado F 1-monopalmitin (6)

6



1-monopalmitin

Fonte: MORENO, 2019

4.4.5 Atividade antimicrobiana e moduladora da fase hexânica da resina de aroeira *Myracrodruon urundeuva*

Produtos naturais derivados de plantas medicinais vêm sendo utilizados como fonte de novos compostos bioativos em especial para o tratamento de doenças infecciosas. Portanto, é real a possibilidade de utilizar plantas como fonte de novos compostos bioativos que sejam eficazes contra bactérias resistentes aos antibióticos convencionais (LUCENA et al., 2015).

Tabela 39– Concentração inibitória mínima frente a cepas bacterianas

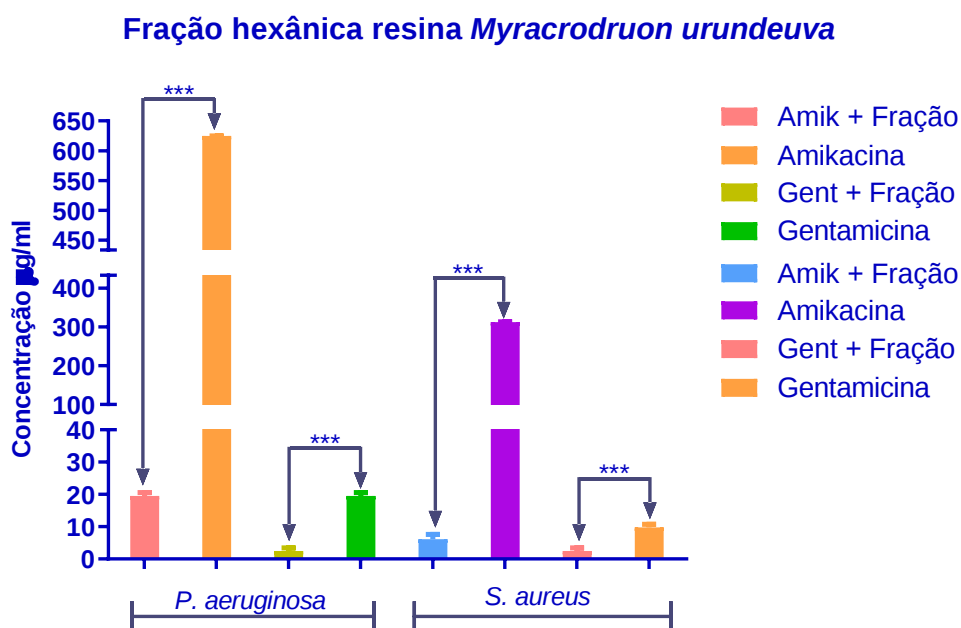
Espécies	CIM (µg/mL)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC (27853)	≥1024
	≥1024
	≥1024
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC (25923)	≥1024
	≥1024
	≥1024

A fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva* não mostrou atividade antimicrobiana de relevância clínica contra as cepas bacterianas *S. aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853), onde a concentração inibitória mínima foi igual ou maior que 1024 µg/mL, (Tabela III.16), e ela foi testada em concentração subinibitórias para atividade moduladora de antibióticos usando linhagens multirresistente *Pseudomonas aeruginosa* 31 e *Staphylococcus aureus* 35, tratadas com antibióticos das classes aminoglicosídeo. Eles mostraram efeitos significativos em comparação com a atividade do antibiótico sozinho, de acordo com o perfil de resistência das cepas utilizadas (Figura 84).

A associação da amicacina com a fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva* mostrou efeito sinérgico na cepa *Staphylococcus aureus*, com redução da CIM de 312.5 para 6.148 µg/mL (CIF 0,019) e gentamicina de 9.760 a 2.440 µg/mL (CIF 0,25). Considerando que a associação da amicacina com a fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva* foi observada também efeito sinérgico na cepa *Pseudomonas aeruginosa*, sendo a redução da CIM de 625,00 para 19,530 µg/mL (CIF 0,031) e da gentamicina de 19,530 para 2.440 µg / mL (CIF 0,124) (Figura 84). Os resultados do Índice de Concentração Inibitória Fracionária (CIF) são interpretados como sinérgicos se o índice CIF for <0,5 (AGESTAM, 2016). Fundamentando que as bactérias Gram-positivas têm uma parede celular quimicamente

menos complexa e com um nível lipídico inferior ao das bactérias Gram-negativas, (SIEBRA et al., 2018), sugere-se que a estrutura de *S. aureus* (bactéria Gram-positiva) pode ser um fator facilitador na atividade sinérgica da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva* com aminoglicosídeos.

Figura 84– Modulação da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*



Fonte: MORENO, 2019

Os mecanismos pelos quais extratos podem inibir o crescimento de microrganismos são variados e podem ser em parte devido à natureza hidrofóbica de alguns componentes. Como resultado, podem demonstrar maior interação com a bicamada lipídica da membrana celular, afetando a cadeia respiratória e a produção de energia, ou até mesmo tornar a célula mais permeável aos antibióticos, levando à interrupção da atividade celular vital. Vários componentes dos extratos podem permeabilizar a membrana celular, aumentando a penetração de antibióticos (MATIAS et al., 2010).

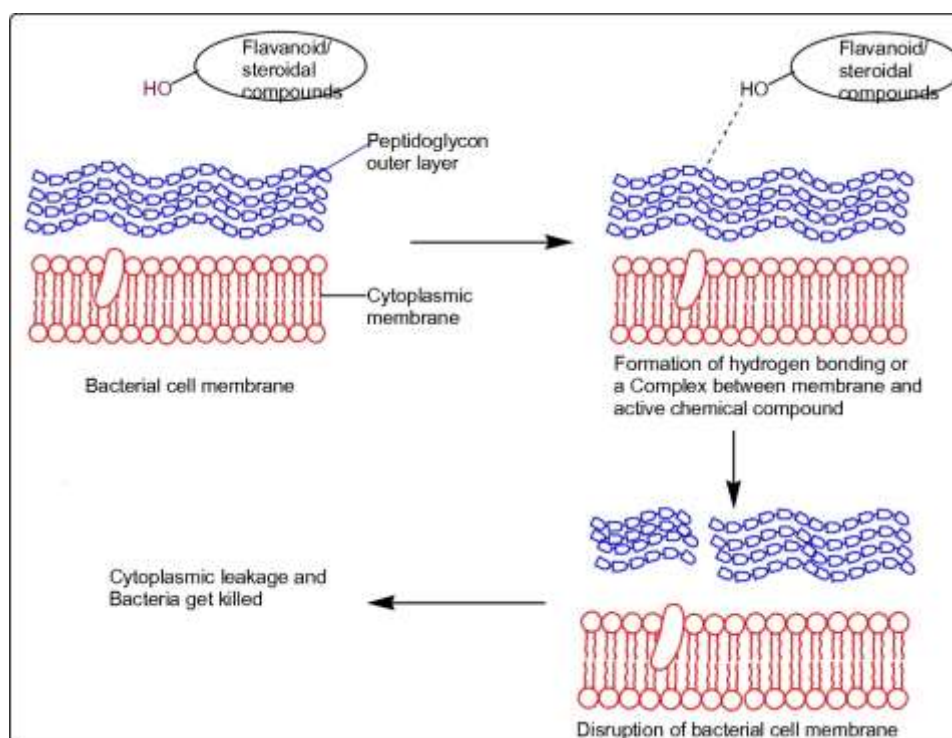
Tanto a amicacina quanto a gentamicina associada a fração hexânica frente às bactérias multirresistentes *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, foram agentes moduladores e potencializadores, possivelmente relacionado à presença de ácidos triterpenos e hidroxilados, segundo análise UPLC-DAD-QTOF-MS/MS que estão presentes na resina de *Myracrodruon urundeuva*.

As propriedades antibacterianas de ácido ursólico e o ácido oleanólico foram avaliadas contra diferentes espécies bacterianas, e os resultados obtidos sugeriram a importância destes compostos como drogas antibióticas. Além disso, o estudo da relação estrutura-atividade

sugeriu que a quantidade e o posicionamento do grupo hidroxila no esqueleto de triterpenos pentacíclicos podem impactar o nível da atividade (JESUS et al., 2015). O grupo hidroxila no anel A dos triterpenos é essencial para a atividade antibacteriana Figura 85. Os triterpenos pentacíclicos contendo três grupos hidroxila no anel A foram encontrados principalmente em plantas e apresentaram significativa atividade antibacteriana, também a presença de grupos carboxílico e carbonílico influenciam na atividade antibacteriana, detido que a redução do grupo carbonila para hidroxilo a atividade inibitória de bactérias Gram-positivas melhorou significativamente (HUANG et al., 2015), indicando que grupos hidroxilas faz mais efeito na membrana. Na fração hexânica segundo a análise espectroscópico vamos encontrar esses grupos funcionais o que poderia demonstrar o sinergismo da fração hexânica com os antibióticos amicacina e gentamicina e o potencial antimicrobiano da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*. Os triterpenos contendo grupos hidroxila equatoriais formam complexos estáveis e são voluntariamente sorvidos por vários transportadores devido à formação de ligações de hidrogénio e sendo integrados na membrana formando complexos com fosfolipídios primários da membrana destruindo assim a membrana celular da bactéria Figura 85 (MALLADI et al., 2017).

Até 2015, nenhum trabalho anterior explicou por que os compostos triterpenos do tipo oleanano e ursano mostraram uma atividade inibitória preferencial às bactérias Gram-positivas. Uma hipótese é que a membrana externa que é característica em bactérias Gram-negativas, pode servir como uma barreira de permeação seletiva que protege os danos desses compostos segundo (HUANG et al., 2015), por isso poderia ser o resultado obtido na *P. aeruginosa* que é diferente ao de *S. aureus*.

Figura 85— O mecanismo plausível para atividade antibacteriana do grupo hidroxila segundo Malladi et al., 2017



Fonte: MORENO, 2019

As atividades diferenciais contra esses dois tipos de bactérias podem ser elucidadas levando-se em conta as camadas externas das células. No caso das bactérias Gram-positivas, a barreira externa das células é constituída por uma camada de peptidoglicano ineficaz e permeável. Assim, os constituintes dos fármacos são permeáveis através da parede celular das bactérias Gram-positivas. No entanto, em bactérias Gram-negativas, a parede celular é composta de peptidoglicano de múltiplas camadas e membrana fosfolipídica, que é impermeável aos constituintes do fármaco. Este é o primeiro relato de atividade antibacteriana e modulação da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva* pelos aminoglicosídeos, contra bactérias multirresistentes.

4.5 CONCLUSÕES

Foram isoladas duas misturas e um composto puro F e caracterizadas por as técnicas espectroscópicas identificando o composto puro como 1-monopalmitin e nas mistura RA H3 com os constituintes identificados como butirospermol, cicloartenol e 24-metilen cicloartanol, como na mistura RA H6 foram identificados como obtusifoliol e cicloeucalenol, mostrando a presença de núcleos triterpênicos tipo cicloartano na resina de *Myracrodruon urundeuva*, sendo inédito para esta espécie.

A análise por CG permitiu a identificação de 19 possíveis compostos da resina de *Myracrodruon urundeuva*. Já análise por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS permitiu como tentativa de identificação 84 triterpenóides, sendo que os grupos funcionais hidroxila e carboxila foram encontrados nestes triterpenos.

A fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva* é uma fonte alternativa de produto natural com ação antibacteriana, possui capacidade de utilização em conjunto com antibióticos, modulando sua atividade, tanto frente a bactérias Gram-positivas, quanto Gram-negativas, além de que pode ser uma fonte alternativa de compostos bioativos. Este é o primeiro relato sobre a atividade antibiótica modificadora da fração hexânica da resina de *Myracrodruon urundeuva*, constituindo uma nova arma contra a resistência bacteriana aos antibióticos como os aminoglicosídeo

REFERÊNCIAS

- AGESTAM, M. Artkunsap är nöjsam och nyttig bildning. **Svensk Botanisk Tidskrift**, v. 110, n. 6, p. 339, 2016.
- ALONSO, J. R. Tratado de fitomedicina: bases clinicas y farmacológicas: Isis Ediciones, 1998.
- AMARAL, F. M. M.; RIBEIRO, M. N. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; REIS, A. S.; NASCIMENTO, F. R. F.; MACEDO, R. O. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 696–720, 2006.
- Anacardiaceae—The Plant List. 2013. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Anacardiaceae/>>. Acesso em: 28 out. 2018.
- ANDRADE, M. W. De; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A. De. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 1, p. 174–180, 2000.
- ANDRIKOPOULOS, N. K.; KALIORA, A. C.; ASSIMOPOULOU, A. N.; PAPAPEORGIOU, V. P. Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 5, p. 501–507, 2003.
- ASSIMOPOULOU, A. N.; ZLATANOS, S. N.; PAPAGEORGIOU, V. P. Antioxidant activity of natural resins and bioactive triterpenes in oil substrates. **Food chemistry**, v. 92, n. 4, p. 721–727, 2005.
- AZIMOVA, S. S. **Natural Compounds: Cycloartane Triterpenoids and Glycosides**. : Springer, 2013.
- BANDEIRA, M. A. M. Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão): constituintes químicos ativos da planta em desenvolvimento e adulta. 2002. Ph. D. Thesis, Federal University of Ceará, 2002.
- BARBOSA-FILHO, J. M.; NASCIMENTO JÚNIOR, F. A. Do; TOMAZ, A. C. de A.; ATHAYDE-FILHO, P. F. De; SILVA, M. S. Da; CUNHA, E. V; SOUZA, M. de F.; BATISTA, L. M.; DINIZ, M. F. F. Natural products with antileprotic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 141–148, 2007.
- BARBOSA FILHO, J. M.; MEDEIROS, K. C. P.; DINIZ, M. de F. F. M.; BATISTA, L. M.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; SILVA, M. S.; DA CUNHA, E. V. L.; ALMEIDA, J. R. G.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 258–285, 2006.
- BARROSO, G. M. Sistemática de angiospermas do Brasil, vol 2 Imprensa Universitária UFV. Rio de Janeiro, 1991.
- BOER, E.; ELLA, A. B. **Plants producing exudates**. : Backhuys Publishers, 2000.
- BRAGA, R. **Plantas do Nordeste: especialmente do Ceará**. : Fundacao Guimaraes Duque, 2001.
- BREITBACH, U. B.; NIEHUES, M.; LOPES, N. P.; FARIA, J. E. Q.; BRANDÃO, M. G. L. Amazonian Brazilian medicinal plants described by CFP von Martius in the 19th century. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 147, n. 1, p. 180–189, 2013.

CARVALHO, C. E. S.; SOBRINHO-JUNIOR, E. P. C.; BRITO, L. M.; NICOLAU, L. A. D.; CARVALHO, T. P.; MOURA, A. K. S.; RODRIGUES, K. A. F.; CARNEIRO, S. M. P.; ARCANJO, D. D. R.; CITÓ, A.; OTHERS. Anti-Leishmania activity of essential oil of *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All.: Composition, cytotoxicity and possible mechanisms of action. **Experimental parasitology**, , v. 175, p. 59–67, 2017.

CARVALHO, P. E. R.; OTHERS. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. 1994**

CECILIO, A. B.; OLIVEIRA, P. de C.; CALDAS, S.; CAMPANA, P. R. V; FRANCISCO, F. L.; DUARTE, M. G. R.; MENDONÇA, L. de A. M.; ALMEIDA, V. L. De. Antiviral activity of *Myracrodruon urundeuva* against rotavirus. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, , v. 26, n. 2, p. 197–202, 2016.

COLE, M. J.; JANISZEWSKI, J. S.; FOU DA, H. G. Electrospray mass spectrometry in contemporary drug metabolism and pharmacokinetics. **PRACTICAL SPECTROSCOPY SERIES**, , v. 32, p. 211–250, 2002.

COPPEN, J. J. W. **Gums, resins and latexes of plant origin**. : Rome (Italy) FAO, 1995.

CORRÊA, M. P.; DE AZEREDO PENNA, L. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas: HL. : Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. v. 4

CORREIA, S. de J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Secondary metabolites from species of anacardiaceae. **Química Nova**, , v. 29, n. 6, p. 1287–1300, 2006.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; LIMA, E. O. In vitro additive effect of *Hyptis martiusii* in the resistance to aminoglycosides of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Pharmaceutical Biology**, , v. 48, n. 9, p. 1002–1006, 2010.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; LIMA, E. O. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA strains. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, , v. 18, n. SUPPL., p. 670–675, 2008. b.

CRONQUIST, A.; TAKHTADZHĪAN, A. L. An integrated system of classification of flowering plants. : **Columbia University Press**, 1981.

DA SILVA, M. D. S. S.; CITÓ, A. M. D. G. L.; CHAVES, M. H.; LOPES, J. A. D. Triterpenóides tipo cicloartano de própolis de Teresina - PI. **Química Nova**, , v. 28, n. 5, p. 801–804, 2005.

DE FÁTIMA AGRA, M.; DE FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, , v. 17, n. 1, p. 114–140, 2007.

DE, P. T.; URONES, J. G.; MARCOS, I. S.; BASABE, P.; CUADRADO, M. J. S.; FERNANDEZ MORO, R. Triterpenes from *Euphorbia broteri*. **Phytochemistry**, , v. 26, n. 6, p. 1767–1776, 1987.

DEMARQUE, D. P.; CROTTI, A. E. M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: An important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. **Natural Product Reports**, , v. 33, n. 3, p. 432–455, 2016.

DESMARCHELIER, C.; ROMÃO, R. L.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the 'Caatinga' region in northeastern Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, , v. 67, n. 1, p. 69–77, 1999.

DUARTE, M. R.; SCHRODER, L. M.; TOLEDO, M. G.; YANO, M.; MACHADO, A. A.; MODOLO, A. K. ANATOMIA FOLIAR COMPARADA DE ESPÉCIES DE AROEIRA: *Myracrodruon urundeuva* ALLEMÃO E *Schinus terebinthifolius* RADDI. **Visão Acadêmica**, , v. 10, n. 1, p. 18–28, 2009.

FERESIN, G. E.; TAPIA, A.; GIMENEZ, A.; GUTIERREZ RAVELO, A.; ZACCHINO, S.; SORTINO, M.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Constituents of the Argentinian medicinal plant *Baccharis grisebachii* and their antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, , v. 89, n. 1, p. 73–80, 2003.

FERREIRA, T. S.; MOREIRA, C. Z.; CÁRIA, N. Z.; VICTORIANO, G.; SILVA, J.; MAGALHÃES, J. C.; OTHERS. Phytotherapy: an introduction to its history, use and application. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, , v. 16, n. 2, p. 290–298, 2014.

FIGUEIRÔA, J. M. De; BARBOSA, D. C. de A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botanica Brasilica**, , 2004.

GACHUMI, G.; EL-ANEED, A. Mass spectrometric approaches for the analysis of phytosterols in biological samples. **Journal of agricultural and food chemistry**, , v. 65, n. 47, p. 10141–10156, 2017.

GENG, C. A.; CHEN, H.; CHEN, X. L.; ZHANG, X. M.; LEI, L. G.; CHEN, J. J. Rapid characterization of chemical constituents in *Saniculiphyllum guangxiense* by ultra fast liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, , v. 361, n. 1, p. 9–22, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijms.2014.01.021>>

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

GUAN, F.; SOMA, L. R.; LUO, Y.; UBOH, C. E.; PETERMAN, S. Collision-induced dissociation pathways of anabolic steroids by electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, , v. 17, n. 4, p. 477–489, 2006.

HATZAKIS, E.; AGIOMYRGIANAKI, A.; KOSTIDIS, S.; DAIS, P. High-Resolution NMR Spectroscopy: An Alternative Fast Tool for Qualitative and Quantitative Analysis of Diacylglycerol (DAG) Oil. **J Am Oil Chem Soc**, , v. 88, p. 1695–1708, 2011.

HERNÁNDEZ-GALICIA, E.; CALZADA, F.; ROMAN-RAMOS, R.; ALARCÓN-AGUILAR, F. J. Monoglycerides and fatty acids from *Ibervillea sonora* root: isolation and hypoglycemic activity. **Planta medica**, , v. 73, n. 3, p. 236–240, 2007.

HUANG, L.; LUO, H.; LI, Q.; WANG, D.; ZHANG, J.; HAO, X.; YANG, X. Pentacyclic triterpene derivatives possessing polyhydroxyl ring A inhibit Gram-positive bacteria growth by regulating metabolism and virulence genes expression. : Elsevier Ltd, 2015. v. 95 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.01.015>>

IQBAL, A.; FRY, S. C. Potent endogenous allelopathic compounds in *Lepidium sativum* seed

exudate: effects on epidermal cell growth in *Amaranthus caudatus* seedlings. **Journal of experimental botany**, , v. 63, n. 7, p. 2595–2604, 2012.

JESUS, J. A.; LAGO, J. H. G.; LAURENTI, M. D.; YAMAMOTO, E. S.; PASSERO, L. F. D. Antimicrobial activity of oleanolic and ursolic acids: An update. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, , v. 2015, n. Figure 1, 2015.

JIN, M. miao; ZHANG, W. dan; JIANG, H. hong; DU, Y. feng; GUO, W.; CAO, L.; XU, H. jun. UPLC-Q-TOF-MS/MS-guided dereplication of *Pulsatilla chinensis* to identify triterpenoid saponins. **Phytochemical Analysis**, , v. 29, n. 5, p. 516–527, 2018.

KADHIM, M. J.; MOHAMMED, G. J.; HAMEED, I. H. In vitro antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of methanolic extract of fruit *Cassia fistula*. **Oriental Journal of Chemistry**, , v. 32, n. 3, p. 1329–1346, 2016.

KAWAI, S.; TAKADA, Y.; TSUCHIDA, S.; KADO, R.; KIMURA, J. Sterols from bivalves *Calyplogena soyoae* and *Bathymodiolus septemdiemum* living in deep sea. **Fisheries Science**, , v. 73, n. 4, p. 902–906, 2007.

KHAN, M. T. H.; KHAN, S. B.; ATHER, A. Tyrosinase inhibitory cycloartane type triterpenoids from the methanol extract of the whole plant of *Amberboa ramosa* Jafri and their structure-activity relationship. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, , v. 14, n. 4, p. 938–943, 2006.

KIKUCHI, T.; KADOTA, S.; TSUBONO, K. Studies on the Constituents of Orchidaceus Plants. IV. Proton and Carbon-13 Signal Assignments of Cycloeucalenol-Type Triterpenes from *Nervilia purpurea* SCHLECHTER by Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Chem. Pharm. Bull.**, , v. 34, n. 6, p. 2479–2486, 1986.

KONISHI, T.; SATSU, H.; HATSUGAI, Y.; AIZAWA, K.; INAKUMA, T.; NAGATA, S.; SAKUDA, S.; NAGASAWA, H.; SHIMIZU, M. Inhibitory effect of a bitter melon extract on the P-glycoprotein activity in intestinal Caco-2 cells. **British journal of pharmacology**, , v. 143, n. 3, p. 379–387, 2004.

KRSTIĆ, G.; ANĐELKOVIĆ, B.; CHOI, Y. H.; VAJS, V.; STEVIĆ, T.; TEŠEVIĆ, V.; GODEVAC, D. Metabolic changes in *Euphorbia palustris* latex after fungal infection. **Phytochemistry**, , v. 131, p. 17–25, 2016.

LACIKOVA, L.; ABDEL-HAMID, M. E.; NOVOTNY, L.; MASTEROVA, I.; GRANCAI, D. A rapid tandem mass spectrometric assay for determination of ursolic acid - Application to analysis of ursolic acid in four species of *Staphylea* L. and leaves of *Staphylea pinnata* L. gathered during ontogenesis. **Chromatographia**, , v. 63, n. 3–4, p. 117–122, 2006.

LAMBERT, J. B.; HECKENBACH, E. A.; WU, Y.; SANTIAGO-BLAY, J. A. Characterization of plant exudates by principal-component and cluster analyses with nuclear magnetic resonance variables. **Journal of Natural Products**, , v. 73, n. 10, p. 1643–1648, 2010.

LANGENHEIM, J. H. **Plant resins: chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany**. : Oregon, US: Timber Press, 2003.

LASZCZYK, M. N. Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. **Planta medica**, , v. 75, n. 15, p. 1549–1560, 2009.

LEE, S. Y.; CHOI, S. U.; LEE, J. H.; LEE, D. U.; LEE, K. R. A new phenylpropane glycoside from the rhizome of *sparganium stoloniferum*. **Archives of Pharmacal Research**, , v. 33, n. 4, p. 515–521, 2010.

LICÁ, I. C. L.; SOARES, A. M. dos S.; DE MESQUITA, L. S. S.; MALIK, S. Biological properties and pharmacological potential of plant exudates. *Food Research International*, v. 105, n. September 2017, p. 1039–1053, 2018.

LIU, P.; SUN, J. H.; XU, M.; GUO, H.; GUO, H. Z.; KANG, J.; HAN, J.; WANG, B. R.; GUO, D. A. Characterization of diterpenoids in the bark of *Pseudolarix kaempferi* by HPLC-ESI/MSn. *Yaoxue Xuebao*, v. 46, n. 2, p. 213–220, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2002

LUCENA, B. F. F.; TINTINO, S. R.; FIGUEREDO, F. G.; DE M OLIVEIRA, C. D.; DOS S AGUIAR, J. J.; DO N CARDOSO, E.; DE AQUINO, P. E. A.; ANDRADE, J. C.; COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora de aminoglicosídeos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Acta Biológica Colombiana*, v. 20, n. 1, 2015.

MAHATO, S. B.; NANDY, A. K.; ROY, G. Triterpenoids. *Phytochemistry*, v. 31, n. 7, p. 2199–2249, 1992.

MAHATO, S. B.; SEN, S. Advances in triterpenoid research, 1990–1994. *Phytochemistry*, v. 44, n. 7, p. 1185–1236, 1997.

MAIA-SILVA, C.; INES DA SILVA, C.; HRNCIR, M.; TEIXEIRA DE QUEIROZ, R.; IMPERATIZ FONSECA, V. . **Guia de Plantas VISITADAS POR ABELHAS NA CAATINGA**. 2012

MAIA, J. G. S.; DA SILVA, M. H. L.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. das G. B.; LÉA MARIA M, C. Essential oils from *Astronium urundeuva* (Allemão) Engl. and *A. fraxinifolium* Schott ex Spreng. *Flavour and fragrance journal*, v. 17, n. 1, p. 72–74, 2002.

MALLADI, S.; RATNAKARAM, V. N.; SURESH BABU, K.; PULLAIAH, T. Evaluation of in vitro antibacterial activity of *Caralluma lasiantha* for scientific validation of Indian traditional medicine. *Cogent Chemistry*, v. 3, n. 1, p. 1–16, 2017.

MANDER, L.; LIU, H. W. **Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology**. v. 1. 2010

MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, v. 84, n. 4, p. 538–544, 1998.

MATHESON, C. D.; MCCOLLUM, A. J. Characterising native plant resins from Australian Aboriginal artefacts using ATR-FTIR and GC/MS. *Journal of Archaeological Science*, v. 52, p. 116–128, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2014.08.016>>

MATIAS, E. F. F.; ALVES, E. F.; SANTOS, B. S.; SOBRAL DE SOUZA, C. E.; ALENCAR FERREIRA, J. V. De; SANTOS DE LAVOR, A. K. L.; FIGUEREDO, F. G.; FERREIRA DE LIMA, L.; VIEIRA DOS SANTOS, F. A.; NEVES PEIXOTO, F. S.; VIANA COLARES, A.; AUGUSTI BOLIGON, A.; SARAIVA, R. D. A.; ATHAYDE, M. L.; DA ROCHA, J. B. T.; ALENCAR MENEZES, I. R.; DOUGLAS MELO COUTINHO, H.; DA COSTA, J. G. M. Biological Activities and Chemical Characterization of *Cordia verbenacea* DC. as Tool to Validate the Ethnobiological Usage. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–8, 2013.

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; ALMEIDA, T. S.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Enhancement of antibiotic activity by *Cordia verbenacea* DC. **Latin American Journal**

of *Pharmacy*, , v. 29, n. 6, p. 1049–1052, 2010.

MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. Fortaleza: UFC, , 2000.

MENEZES, A. M. S.; RAO, V. S. N.; FONTELES, M. C. Anti-ulcerogenic activity of *Astronium urundeuva*. **Fitoterapia**, , 1986.

MILON, A.; NAKATANI, Y.; KINTZINGER, J.-P.; OURISSON, G. The conformation of cycloartenol investigated by NMR and molecular mechanics. **Helvetica Chimica Acta**, , v. 72, n. 1, p. 1–13, 1989.

MIRHOSSEINI, H.; AMID, B. T. A review study on chemical composition and molecular structure of newly plant gum exudates and seed gums. **Food Research International**, , v. 46, n. 1, p. 387–398, 2012.

MO, S.; DONG, L.; HURST, W. J.; VAN BREEMEN, R. B. Quantitative analysis of phytosterols in edible oils using APCI liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Lipids**, , v. 48, n. 9, p. 949–956, 2013.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; LINS NETO, E. M. F.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, M. M.; AMORIM, E. L. C. The effects of seasonal climate changes in the Caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, , v. 16, n. 3, p. 338–344, 2006.

MONTEIRO, J. M.; NETO, L.; DE FREITAS, E. M.; AMORIM, E. L. C. De; STRATTMANN, R. R.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. De. Tannin concentration in three sympatric medicinal plants from Caatinga vegetation. **Revista Árvore**, , v. 29, n. 6, p. 999–1005, 2005.

MORAES, M. L. T.; FREITAS, M. L. M. Resumos EMBRAPA-CPAO/Flora Sul. Dourados-Mato Grosso do Sul, , 1997.

MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; QUEIROZ, C. R. A. A.; PILÓ-VELOSO, D.; DRUMOND, M. G. Studies on polyphenols and lignin of *Astronium urundeuva* wood. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, , v. 10, n. 6, p. 447–452, 1999.

NAUMOSKA, K.; VOVK, I. Analysis of triterpenoids and phytosterols in vegetables by thin-layer chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, , v. 1381, p. 229–238, 2015.

NEUMANN, G.; RÖMHELD, V. The release of root exudates as affected by the plant physiological status. The Rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface, , v. 2, p. 23–72, 2007.

NURMALA, A.; FITRIA, A.; PRANOWO, D.; SHOLIKHAH, E.; KURNIAWAN, Y.; KUSWANDI, B.; OTHERS. Monomyristin and Monopalmitin Derivatives: Synthesis and Evaluation as Potential Antibacterial and Antifungal Agents. **Molecules**, , v. 23, n. 12, p. 3141, 2018.

OLEA, R.S.G.; ROQUE, N. F. Análise de misturas de triterpenos por RMN de ^{13}C , 1990.

OLIVEIRA, F. A.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C.; FLORÊNCIO, M. G.; LIMA JR, R. C. P.; SILVA, R. M.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice

and rats. **Pharmacological Research**, , v. 49, n. 2, p. 105–111, 2004.

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

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do pantanal**. , 1994.

QIAO, X.; SONG, W.; WANG, Q.; LIU, K. Di; ZHANG, Z. X.; BO, T.; LI, R. Y.; LIANG, L. N.; TZENG, Y. M.; GUO, D. A.; YE, M. Comprehensive chemical analysis of triterpenoids and polysaccharides in the medicinal mushroom *Antrodia cinnamomea*. **RSC Advances**, , v. 5, n. 58, p. 47040–47052, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C5RA04327A>>

QUEIROZ, C. R. A. dos A.; MORAIS, S. A. L. De; NASCIMENTO, E. A. Do. Characterization of aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*) wood tannins. **Revista Árvore**, , v. 26, n. 4, p. 493–497, 2002.

RANNULU, N. S.; COLE, R. B. Novel fragmentation pathways of anionic adducts of steroids formed by electrospray anion attachment involving regioselective attachment, regiospecific decompositions, charge-induced pathways, and ion-dipole complex intermediates. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, , v. 23, n. 9, p. 1558–1568, 2012.

RIKKINEN, J.; BEIMFORDE, C.; SEYFULLAH, L. J.; PERRICHOT, V.; SCHMIDT, K.; SCHMIDT, A. R. *Resinogalea humboldtensis* gen. et sp. nov., a New Resiniculous Fungus from New Caledonia, Placed in *Bruceomycetaceae* fam. nova (Ascomycota). In: ANNALES BOTANICI FENNICI 2016, Anais.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotechnologia**. São Paulo: Premier, , p. 92–121, 1997.

RODRIGUES, L. V.; FERREIRA, F. V.; REGADAS, F. S. P.; MATOS, D.; VIANA, G. S. de B. Morphologic and morphometric analyses of acetic acid-induced colitis in rats after treatment with enemas from *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.(Aroeira do Sertão). **Phytotherapy Research**, , v. 16, n. 3, p. 267–272, 2002.

RUSSO, M. V.; AVINO, P. Characterization and Identification of Natural Terpenic Resins employed in “Madonna con Bambino e Angeli” by Antonello da Messina using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Chemistry Central Journal**, , v. 6, n. 1, p. 1–10, 2012.

SAMPAIO, E. V. S. B. **Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial. : Associação Plantas do Nordeste**, 2005.

SÁNCHEZ-ÁVILA, N.; PRIEGO-CAPOTE, F.; RUIZ-JIMÉNEZ, J.; DE CASTRO, M. D. L. Fast and selective determination of triterpenic compounds in olive leaves by liquid chromatography--tandem mass spectrometry with multiple reaction monitoring after microwave-assisted extraction. **Talanta**, , v. 78, n. 1, p. 40–48, 2009.

SANDJO, L. P.; NASCIMENTO, M. V. P. do. S.; DA SILVA, L. A. L.; MUNHOZ, A. C. M.; POLLO, L. A. E.; BIAVATTI, M. W.; NGADJUI, B. T.; OPATZ, T.; FRÖDE, T. S. ESI-MS2 and Anti-inflammatory Studies of Cyclopropanic Triterpenes. UPLC-ESI-MS and MS2 Search of Related Metabolites from *Donella ubanguiensis*. **Phytochemical Analysis**, , v. 28, n. 1, p. 27–41, 2017.

SANGUINETTI, E. E. **Plantas que curam/por Emmanuel Sanguinetti**--Porto Alegre. Rigel.. 208p, , 1989.

SANTIN, D. A. Revisão taxonômica do gênero *Astronium* Jacq. e revalidação do gênero *Myracrodruon* FR. Allem (Anacardiaceae). : Universidade Estadual de Campinas, 1989.

SANTIN, D. A.; LEITÃO FILHO, H. de F. Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon* Freire Allemão (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, , v. 14, n. 2, p. 133–145, 1991.

SANTOS, E. **Nossas madeiras**. , 1987.

SARMENTOS, Tania. **Árvore Myracrodruon urundeuva Fr. Allemão** 2018. 4 fotografias

SHAMSABADIPOUR, S.; GHANADIAN, M.; SAEEDI, H.; REZA RAHIMNEJAD, M.; MOHAMMADI-KAMALABADI, M.; AYATOLLAHI, S. M.; SALIMZADEH, L. Triterpenes and steroids from euphorbia denticulata lam. with anti-herpes simplex virus activity. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, , v. 12, n. 4, p. 759–767, 2013.

SIEBRA, A. L. A.; OLIVEIRA, L. R.; MARTINS, A. O. B. P. B.; SIEBRA, D. C.; ALBUQUERQUE, R. S.; LEMOS, I. C. S.; DELMONDES, G. A.; TINTINO, S. R.; FIGUEREDO, F. G.; DA COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; FELIPE, C. F. B.; KERNTOPF, M. R. Potentiation of antibiotic activity by *Passiflora cincinnata* Mast. front of strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, , v. 25, n. 1, p. 37–43, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.019>>

SILVA, E. O.; TAVARES, M. I. B.; BATHISTA, A. L. B. S.; FILHO, N. P.; NOGUEIRA, J. S. High-resolution carbon-13 nuclear magnetic resonance study of natural resins. **Journal of applied polymer science**, , v. 86, n. 8, p. 1848–1854, 2002.

SINGH, A.; SHARMA, M. L.; SINGH, J. Total synthesis of three natural products: Decyl 8-hydroxyheptadecanoate, undecyl hexadecanoate and 2, 3-dihydroxypropyl hexadecanoate. , 2010.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. : Instituto Plantarum, 2005.

SUSUNAGA, G. S.; SIANI, A. C.; PIZZOLATTI, M. G.; YUNES, R. A.; DELLE MONACHE, F. Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum*. **Fitoterapia**, , v. 72, n. 6, p. 709–711, 2001.

THIMMAPPA, R.; GEISLER, K.; LOUVEAU, T.; O'MAILLE, P.; OSBOURN, A. Triterpene biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, , v. 65, p. 225–257, 2014.

TSUZUKI, W.; TSUZUKI, S.; HAYAMIZU, K.; KOBAYASHI, S.; SUZUKI, T. Conformation analysis of glycerides by nuclear magnetic resonance. **Chemistry and physics of lipids**, , v. 76, n. 1, p. 93–102, 1995.

UREN, N. C. Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants. In: The rhizosphere. : CRC Press, 2000. p. 35–56.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Medicinal plants: safe cure **Química Nova**, , v. 28, n. 3, p. 519–528, 2005.

VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. A. M.; MATOS, F. J. A. Analgesic and antiinflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* Allemão. **Phytomedicine**, , v. 10, n. 2–3, p. 189–195, 2003.

VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. A. M.; MOURA, L. C.; SOUZA-FILHO, M. V. P.;

MATOS, F. J. A.; RIBEIRO, R. A. Analgesic and antiinflammatory effects of the tannin fraction from *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Medical and Scientific**, , v. 11, n. 2, p. 118–122, 1997.

VIANA, G. S. B.; MATOS, F. J. A.; BANDEIRA, M. A. M.; RAO, V. S. **Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.): estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico**, 2ª edição revisada e ampliada. Fortaleza, Edições UFC, , 1995.

WANG, X.; WANG, X.; JIN, Q.; WANG, T. Improved synthesis of monopalmitin on a large scale by two enzymatic methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, , v. 90, n. 10, p. 1455–1463, 2013.

WATSON, L. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification and information retrieval. <http://biodiversity.uno.edu/delta.htm>, , 1992.

WU, J.; LI, M.; XIAO, Z.; ZHOU, Y. Butyrospermol fatty acid esters from the fruit of a Chinese mangrove *Xylocarpus granatum*. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section B Journal of Chemical Sciences**, , v. 61, n. 11, p. 1447–1449, 2006.

YANG, M.; WANG, X.; GUAN, S.; XIA, J.; SUN, J.; GUO, H.; GUO, D. an. Analysis of Triterpenoids in *Ganoderma lucidum* Using Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, , v. 18, n. 5, p. 927–939, 2007.

YANG, W.; POLLARD, M.; LI-BEISSON, Y.; BEISSON, F.; FEIG, M.; OHLROGGE, J. A distinct type of glycerol-3-phosphate acyltransferase with sn-2 preference and phosphatase activity producing 2-monoacylglycerol. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, , v. 107, n. 26, p. 12040–12045, 2010.

YANG, W.; SIMPSON, J. P.; LI-BEISSON, Y.; BEISSON, F.; POLLARD, M.; OHLROGGE, J. B. A land-plant-specific glycerol-3-phosphate acyltransferase family in Arabidopsis: substrate specificity, sn-2 preference, and evolution. **Plant Physiology**, , v. 160, n. 2, p. 638–652, 2012.

YASUKAWA, K.; AKIHISA, T. Antitumor-promoting activities of sterols and triterpenoids. **Journal of Japan Oil Chemists' Society**, , v. 49, n. 6, p. 571–582, 2000.

YOSHIDA, K.; HIROSE, Y.; IMAI, Y.; KONDO, T.; KONDO, T. Conformational analysis of cycloartenol, 24-methylenecycloartanol and their derivatives. **Agricultural and Biological Chemistry**, , v. 53, n. 7, p. 1901–1912, 1989.

ZUMBÜHL, S.; BRÄNDLE, A.; HOCHULI, A.; SCHERRER, N. C.; CASERI, W. Derivatization Technique to Identify Specifically Carbonyl Groups by Infrared Spectroscopy: Characterization of Photooxidative Aging Products in Terpenes and Terpeneous Resins. **Analytical Chemistry**, , v. 89, n. 3, p. 1742–1748, 2017.