

Artigo

**Análises Químicas e Potencial Antioxidante do Mel de Angico
Produzido pelas Abelhas Sem-Ferrão Jandaíra**

da Silva, T. M. G.; da Silva, P. R., Camara' C. A.; da Silva, G. S.; dos Santos,
F. A. R. Silva, T. M. S.*

Rev. Virtual Quim., 2014, 6 (5), 1370-1379. Data de publicação na Web: 15 de setembro de 2014

<http://www.uff.br/rvq>

**Chemical Analysis and Antioxidant Potential of Angico Honey Collected by Stingless
Bee Jandaíra**

Abstract: The profile of phenolic compounds by HPLC-DAD, melissopalynological, physicochemical analysis and antiradical activity of *Anadenanthera colubrina* honey collected by *Melipona subnitida* bees are presented. The physicochemical analysis revealed that the two samples showed a similar profile. The compounds 4-quinolone and two isomers of (+)-(2*E*,4*E*)- and (+)-(2*Z*,4*E*)-abscisic acid were isolated and quantified. The free radical scavenging activity (DPPH and ABTS) was done with pure honey, MeOH fraction and the three isolated compounds. MeOH fraction was more active than the pure substances tested separately, which shows the synergy between the compounds. The *Z,E*-abscisic acid was more active than the corresponding *E,E*-isomer.

Keywords: Jandaíra honey; *Anadenanthera colubrina*; abscisic acid; 4-quinolone; antioxidant activity.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi analisar o perfil de compostos fenólicos por CLAE-DAD, fazer as análises melissopalínológicas, físico-química e atividade sequestradora de radical livre do mel de *Anadenanthera colubrina* coletado pelas abelhas sem ferrão *Melipona subnitida*. As análises físico-químicas revelaram que as duas amostras mostraram um perfil semelhante. Os compostos 4-quinolona e os dois isômeros do ácido abscísico (+)-(2*E*,4*E*) e (+)-(2*Z*,4*E*) foram separados e quantificados. A atividade sequestradora de radicais livres (DPPH e ABTS) foi realizada com o mel puro, fração MeOH e os três compostos isolados. A fração MeOH é mais ativa do que as substâncias puras testadas separadamente, o que demonstra o sinergismo entre os compostos. O *Z,E*-ácido abscísico é mais ativo do que o isômero correspondente *E,E*.

Palavras-chave: Mel de jandaíra; *Anadenanthera colubrina*; ácidos abscísicos; 4-quinolona; atividade antioxidante.

* Universidade Federal Rural de Pernambuco, Laboratório de Bioprospecção Fitoquímica, Departamento de Ciências Moleculares, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil.

✉ taniasarmento@dcm.ufrpe.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20140089](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20140089)

Análises Químicas e Potencial Antioxidante do Mel de Angico Produzido pelas Abelhas Sem-Ferrão Jandaíra

**Telma Maria G. da Silva,^a Paulo Ricardo da Silva,^a Celso A. Camara,^a
Gerlania S. da Silva,^b Francisco de Assis R. dos Santos,^c Tania Maria S.
Silva^{a*}**

^a Universidade Federal Rural de Pernambuco, Laboratório de Bioprospecção Fitoquímica,
Departamento de Ciências Moleculares, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil.

^b Laboratório Central de Saúde Pública da Paraíba (LACEN-PB), CEP 58085-000, Paraíba, Brasil.

^c Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Biológicas, CEP 44036-
900, Bahia, Brasil.

* taniasarmento@dcm.ufrpe.br

Recebido em 22 de abril de 2014. Aceito para publicação em 11 de setembro de 2014

- 1. Introdução**
- 2. Material e Métodos**
- 3. Resultados e discussão**
- 4. Conclusões**

1. Introdução

O mel de abelha é uma solução supersaturada de açúcares, dos quais os principais constituintes são frutose (38 %) e glicose (31 %). Uma grande variedade de constituintes químicos em menor quantidade também faz parte do mel e muitos são conhecidos pelas propriedades antioxidantes que incluem os ácidos fenólicos e os flavonoides.^{1,2} O mel das abelhas Meliponas (abelhas nativas) é um produto valioso e bem apreciado pela população da região Nordeste do Brasil.²

Na caatinga brasileira são conhecidas 187 espécies de abelhas, a maioria delas considerada como espécies raras.³

Entretanto, as mais abundantes são as abelhas sociais nativas sem ferrão, como a jandaíra, jati, amarela, moça-branca, irapuá, cupira, mandaçaia, remela, canudo, limão, munduri e a introduzida *Apis mellifera*, também conhecida como abelha de mel, abelha europa e abelha africanizada. A abelha-sem-ferrão *Melipona subnitida* Ducke, conhecida como jandaíra é uma das abelhas nativas do semiárido mais utilizadas pelo homem da caatinga, é nativa e endêmica do Nordeste brasileiro. Esta espécie é comercialmente valorizada pela população local por causa das propriedades medicinais atribuídas ao seu mel e pólen. No entanto, sua importância principal está ligada à conservação ambiental e produção de frutos através da polinização de espécies vegetais nativas e culturas cultivadas na Caatinga.^{4,5}

A atividade antioxidante do mel é a capacidade que esses produtos têm de minimizar as reações oxidativas no organismo.⁶ Essa capacidade antioxidante depende da origem floral. A predominância de uma determinada espécie vegetal é influenciada por fatores geográficos, sazonais e ambientais.⁷ Assim, os méis apresentam composições e propriedades diferentes e dependem da região onde foram coletados.²

Em continuação ao estudo com os produtos da jandaíra e de outras espécies nativas sem ferrão,^{2,4,5} neste trabalho foram realizadas as análises melissopalínológicas e físico-químicas do mel da Jandaíra (*Melipona subnitida*). Além disso, os principais constituintes foram extraídos e analisados por CLAE-DAD (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Arranjo de Diodos). Os compostos foram quantificados e identificados através de técnicas espectroscópicas usuais, a determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada através do teste de Folin-Ciocalteu e o potencial antioxidante do mel e dos extratos também foi estudado.

2. Material e Métodos

Os espectros de infravermelho foram realizados em espectrofotômetro Varian 640 FT-IR em pastilhas de KBr. Os espectros de LC-ESI-MS foram obtidos em modo positivo em Esquire 3000 Plus (Bruker). Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram registrados em aparelho Bruker DPX300 (300 MHz para RMN de ¹H e 75 MHz para RMN de ¹³C) em DMSO-*d*₆. Foi utilizado espectrofotômetro UV-Visível Perkin Elmer Lambda 45 duplo feixe e cubetas de quartzo.

As análises por CLAE foram realizadas utilizando um equipamento Shimadzu Prominence LC-20AT com um detector de arranjo de diodo (SPDM20), injetor automático SIL-20AC, forno CTO-20A e degaseificador DGU-20A5. A separação cromatográfica foi feita com uma coluna Luna C-18 (25 cm x 4,6 mm x 5 μm,

Phenomenex).

Os reagentes Folin–Ciocalteu, DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila), persulfato de potássio, Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), foram obtidos da Sigma-Aldrich. ABTS (ácido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiozolin-6-sulfônico) e o ácido gálico foram obtidos da Fluka Chemie GmbH. O ácido *L*-ascórbico e o ácido fórmico foram obtidos da Vetec. Os padrões dos ácidos abscísicos foram isolados e identificados da amostra do mel de jandaíra coletada em 2009.² Foram utilizados cartuchos de extração em fase sólida SEP-PAK C-18 (Waters Associates) e filtro de nylon (Whatman) 0,45 μm. Todos os solventes utilizados foram grau HPLC.

As amostras do mel foram coletadas no sítio Riacho, município de Vieirópolis em março de 2010 e março de 2011 e foram mantidos a temperatura de 4 °C até o processamento das análises.

As amostras do mel foram submetidas às análises palínológicas de acordo com a técnica de Louveaux *et al.*⁸ Os tipos polínicos foram classificados como pólen dominante (>45 %), pólen acessório (≤ 45 % ≥ 15 %), pólen isolado importante (≤ 15 % ≥ 3 %) e pólen isolado ocasional (< 3 %). As lâminas com os grãos de pólen estão depositadas na Palinoteca do Laboratório de Micromorfologia Vegetal, Universidade Estadual de Feira de Santana (Bahia, Brasil).

Para extração dos fenólicos as amostras do mel foram aquecidas a 40 °C para homogeneização e resfriadas até 25 °C. Uma alíquota de 10 g do mel foi solubilizada sob agitação em 40 mL de água acidificada (pH = 2 com HCl). Os fenólicos foram extraídos usando cartucho de extração em fase sólida SPE C-18⁹ que foram previamente ativados utilizando 10 mL de metanol e 10 mL de água ultra pura. Após este procedimento foram adicionados 10 mL de água ultra pura para remoção dos açúcares e outros constituintes polares do mel. A fração dos compostos fenólicos retidas no cartucho foram eluídas com 10 mL de metanol. O solvente foi evaporado obtendo-se 0,0155 g e 0,0185 g

das amostras do mel de 2010 e 2011, respectivamente. As amostras foram solubilizadas em metanol nas concentrações de 5 mg.mL^{-1} e filtradas em membrana de $0,45 \mu\text{m}$ para análise em CLAE-DAD.

Na análise das frações por CLAE-DAD foi observada a presença de três compostos predominantes, sendo dois deles os ácidos abscísicos isoméricos que foram identificados pela comparação por CLAE-DAD com os padrões isolados anteriormente.² Os ácidos abscísicos apresentaram os valores de $[\alpha]_D = +290$ ($c = 0,001$, MeOH) e $+270$ ($c = 0,001$, MeOH) para o ácido (2*E*,4*E*)-abscísico **2** e ácido (2*Z*,4*E*)-abscísico **3**, respectivamente. Para o isolamento da substância **1**, 217 g de mel foi submetido a extração em fase sólida na mesmas condições descritas anteriormente. A fração metanólica foi purificada CLAE-DAD preparativo com coluna C-18 Luna (250 x 21,20 mm, 5 μ , Phenomenex), fluxo de 16 mL/min, usando como fase móvel H₂O (Solvente A) e metanol (Solvente B), com sistema de eluição: 1-10 min, 50-100 % de B. As substâncias foram monitoradas a 315 e 270 nm. A substância **1** (27,0 mg) foi submetida a análise de RMN de ¹H e ¹³C e LC-ESI-MS.

Para a quantificação das substâncias foi utilizada como fase móvel a mistura H₂O:ácido fórmico (99:1, solvente A) e metanol (Solvente B). Foi utilizado o sistema de eluição 1 min 50 % B, 3 min 80 % B, 5 min 100 % B, 6 min 100 % B, fluxo de $1,5 \text{ mL.min}^{-1}$. Para monitoramento foi utilizado o comprimento de onda de 315 para **1** e 270 nm para os ácidos abscísicos (2*E*,4*E*) **2** e (2*Z*,4*E*) **3**, temperatura de 35 °C. As curvas de calibração utilizando padrão externo foram realizadas nas concentrações de 0,021-0,333 mg.mL^{-1} em triplicata para as três substâncias. O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) para **1** foi de 0,011 μg e 0,034 μg , respectivamente e para **2** e **3** foi de 0,024 μg e 0,074 μg , respectivamente.

4-quinolona (**1**). Sólido amorfo, p.f 101-103 °C. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz), 8,08 (H-5; dd, $J=8,1$ e $1,0$ Hz); 7,90 (H-2; d, $J=7,5$

Hz), 7,64 (H-7; m), 7,54 (H-8; d, $J=7,8$ Hz), 7,31 (H-6; m), 6,03 (H-3; d, $J=7,5$ Hz). RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz): 176,9 (C-4), 140,01 (C-9), 139,37 (C-2), 131,61 (C-7), 125,81 (C-10), 124,93 (C-5), 123,04 (C-6), 118,24 (C-8), 108,67 (C-3). LC-ESI-MS (modo positivo) m/z 146 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (C₉H₇NO).

As análises físico-químicas foram realizadas em duplicata: pH, acidez livre, hidroximetilfurfural, quantidade de água, cinzas, açúcares redutores, umidade e acidez livre.

Para a determinação do teor de fenólicos totais foi empregado o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu com modificações.¹⁰ Foram preparadas soluções das amostras do mel puro em água: EtOH (1:1) na concentração de 500 mg.mL^{-1} e de 10 mg.mL^{-1} da fração MeOH. Uma alíquota de 150 μL de cada solução foi transferida para um tubo de ensaio, adicionando-se 150 μL de EtOH, 60 μL do reagente de Folin-Ciocalteu, e 2460 μL de água destilada, agitando por 1 minuto. Em seguida, adicionou-se 180 μL de uma solução aquosa de Na₂CO₃ (15 %). Manteve-se a mistura incubada por 2 h ao abrigo da luz. Em seguida, fez-se a medida da absorbância em espectrofotômetro UV-Vis em 760 nm, utilizando a água destilada como branco. O teor de fenólicos totais foi determinado por correlação entre a absorbância das amostras e a absorbância obtida para o padrão do ácido gálico (1 a 15 $\mu\text{L.mL}^{-1}$), os resultados obtidos foram expressos em miligramas equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g).

O teste com o DPPH foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Silva et al.⁴ Foram preparadas soluções das amostras de mel na concentração de $1,0 \text{ g.mL}^{-1}$ para o mel puro e 10 mg.mL^{-1} da fração MeOH e dos compostos isolados. Foram adicionadas de 5 a 70 μL das amostras 2700 μL da solução de DPPH (23,6 $\mu\text{g/mL}$ em EtOH) o volume foi completado para 3 mL com EtOH. Foi utilizado como controle positivo o ácido ascórbico (concentrações variando entre 0,5 a 4,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Após 30

minutos de agitação em aparelho de ultrassom ao abrigo da luz, a quantidade de radicais de DPPH foi registrada em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 517 nm. A percentagem da atividade sequestradora foi calculada pela equação: % AS = $100 \times \Delta h_x / h_c$, h_c = absorbância controle, h_x = absorbância teste, $\Delta h_x = h_c - h_x$.

O ensaio de descoloração do ABTS envolve a geração do cromóforo ABTS^{•+} pela oxidação do ABTS com persulfato de potássio, o método utilizado foi descrito por Re et al.¹¹ com modificações. O radical ABTS foi preparado adicionando 5 mL da solução de ABTS 7 mM com 88 μ L da solução de persulfato de potássio 140 mM, reagindo durante 14 horas ao abrigo da luz. Para o ensaio, 1 mL da solução do radical ABTS foi diluída em EtOH até obter uma absorbância \pm 0,7 a 734 nm. Foram preparadas soluções das amostras de mel puro na concentração de 1,0 g.mL⁻¹ e de 10 mg.mL⁻¹ da fração MeOH e dos compostos isolados. Quantidades apropriadas foram transferidas para tubos de ensaios contendo 2700 μ L da solução de ABTS, o volume foi completado para 3 mL com EtOH. Como controle positivo foi utilizado o Trolox, um análogo da vitamina E solúvel em H₂O. Após 6 minutos de agitação em aparelho de ultrassom ao abrigo da luz a quantidade de radicais de ABTS foi registrada em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 734 nm. A percentagem da atividade sequestradora foi calculada pela equação: % AS = $100 \times \Delta h_x / h_c$, h_c = absorbância controle, h_x = absorbância teste, $\Delta h_x = h_c - h_x$.

Todas as amostras foram analisadas em triplicata e os resultados expressos como média \pm desvio padrão da média. Foi utilizado o programa Microsoft Excel software package (Microsoft Corp., Redmond, WA).

3. Resultados e discussão

As normas técnicas para o padrão de qualidade do mel no Brasil existem apenas

para o produto da espécie *Apis mellifera* L.,¹² principal espécie melífera, por esta razão existe a necessidade para realização dos testes físico-químicos para méis de outras espécies de abelhas, especialmente as do gênero *Melipona* sp.

Os valores de umidade para as amostras de mel foram de 19,4 e 18,6 % para as amostras 2010 e 2011, respectivamente, estes valores estão acima dos valores permitidos para o mel de *Apis mellifera* e próximo aos encontrados recentemente para amostras do mel da jandaíra.² O conhecimento sobre a umidade ajuda a conservação e o estoque prevenindo o crescimento de fungos na superfície.^{13,14} Os méis de *Melipona* sp. sempre apresentam alta umidade o que pode alterar outras características como viscosidade, fluidez e a conservação.^{2,15}

A avaliação de hidroximetilfurfural (HMF) é um parâmetro para verificação do frescor e/ou superaquecimento do mel.¹³ O teor de HMF dos méis 2010 e 2011 analisados foi de 13,2 e 14,0 mg.kg⁻¹, respectivamente, bem abaixo do permitido até 60,0 mg.kg⁻¹. Os valores de pH e acidez livre foram de 4,15 e 4,10 e 24,25 e 23,05 meq.kg⁻¹, respectivamente. O pH baixo dos méis inibe a presença e crescimento de microorganismos. Este parâmetro é muito importante para o armazenamento do mel e influencia na estabilidade durante a estocagem do mel.¹³

Os valores das cinzas variaram de 0,01 % e 0,02 % para os méis 2010 e 2011, respectivamente. A quantidade de cinzas expressa a qualidade do mel em termos de minerais. Os açúcares redutores nas amostras foram de 50,5 % e 72,5 %. Os valores da atividade de água foram 0,650 e 0,720 para 2010 e 2011, respectivamente. Este último parâmetro é importante para determinação da estabilidade de alimentos processados. Estes resultados das análises físico-químicas são semelhantes aos encontrados para méis da jandaíra de origens botânicas diferentes.²

É interessante notar que praticamente todas as características físico-químicas do mel da jandaíra foram constantes nos dois anos consecutivos, isto pode ser devido a origem floral, pois nas duas amostras predominam a mesma espécie *Anadenanthera colubrina* (Leguminosae) (Tabela 1). A *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenam é conhecida popularmente como angico e floresce em massa, sua copa tem uma beleza exuberante durante a estação seca. Suas inflorescências são formadas por flores pequenas, brancas e com odor agradável. Os recursos florais, pólen e néctar, atraem muitas espécies de insetos e principalmente as abelhas nativas, as quais são responsáveis por polinizar suas flores. O tronco do angico libera uma resina amarelada muito utilizada para fins medicinais, na culinária e também coletada

pelas abelhas nativas. Durante a estação seca, período com poucos recursos florais na caatinga, as flores do angico fornecem pólen e néctar para muitas espécies de abelhas sem ferrão, incluindo a jandaíra (*Melipona subnitida*). O angico possui crescimento rápido, pode ser utilizado para fortalecer a criação de abelhas, em áreas de reflorestamento e também em áreas urbanas.¹⁶

No estudo anterior² já havia sido observado que a visita e coleta do néctar pela *Melipona subnitida* é principalmente em espécies da família Fabaceae. Na região semiárida existem muitas espécies vegetais endêmicas com potencial meliponícola, sendo bons marcadores geográficos.¹⁷ Esta observação é verificada mais uma vez nestas análises.

Tabela 1. Análise melissopalínológica dos méis da jandaíra

Família	Tipo polínico	Mel 2010 (%)	Mel 2011 (%)
Anacardiaceae	<i>Tapirira</i>	0,77	
Euphorbiaceae	<i>Croton</i>	11,63	
Euphorbiaceae	<i>Croton</i>		2,11
Leguminosae	<i>Anadenanthera colubrina</i>	42,64	58,86
Leguminosae	<i>Mimosa</i>		0,70
Leguminosae	<i>Piptadenia</i>	3,10	8,45
Leguminosae	<i>Senna</i>	24,03	12,68
Myrtaceae	<i>Myrcia</i>	11,63	4,23
Scrophulariaceae	<i>Indet</i>	3,88	7,34
Indet	<i>Indet</i>	0,77	5,63

A análise por CLAE-DAD mostrou três substâncias principais (Figura 1). As substâncias **2** e **3** foram identificadas por comparação com os tempos de retenção com os ácidos abscísicos *E,E* e *Z,E*, respectivamente. Estes já haviam sido identificados em outros méis coletados pela abelha jandaíra² na região semiárida. Apesar de serem considerados como marcadores de

méis monoflorais^{9,18} o ácido abscísico é um hormônio produzido sob estresse hídrico, uma condição muito comum enfrentada pelas espécies vegetais na região semiárida do Nordeste brasileiro² e sua presença em todas as amostras do mel da jandaíra analisadas até o momento pode não estar relacionado com a origem floral, uma vez que possuem origens botânicas diferentes.

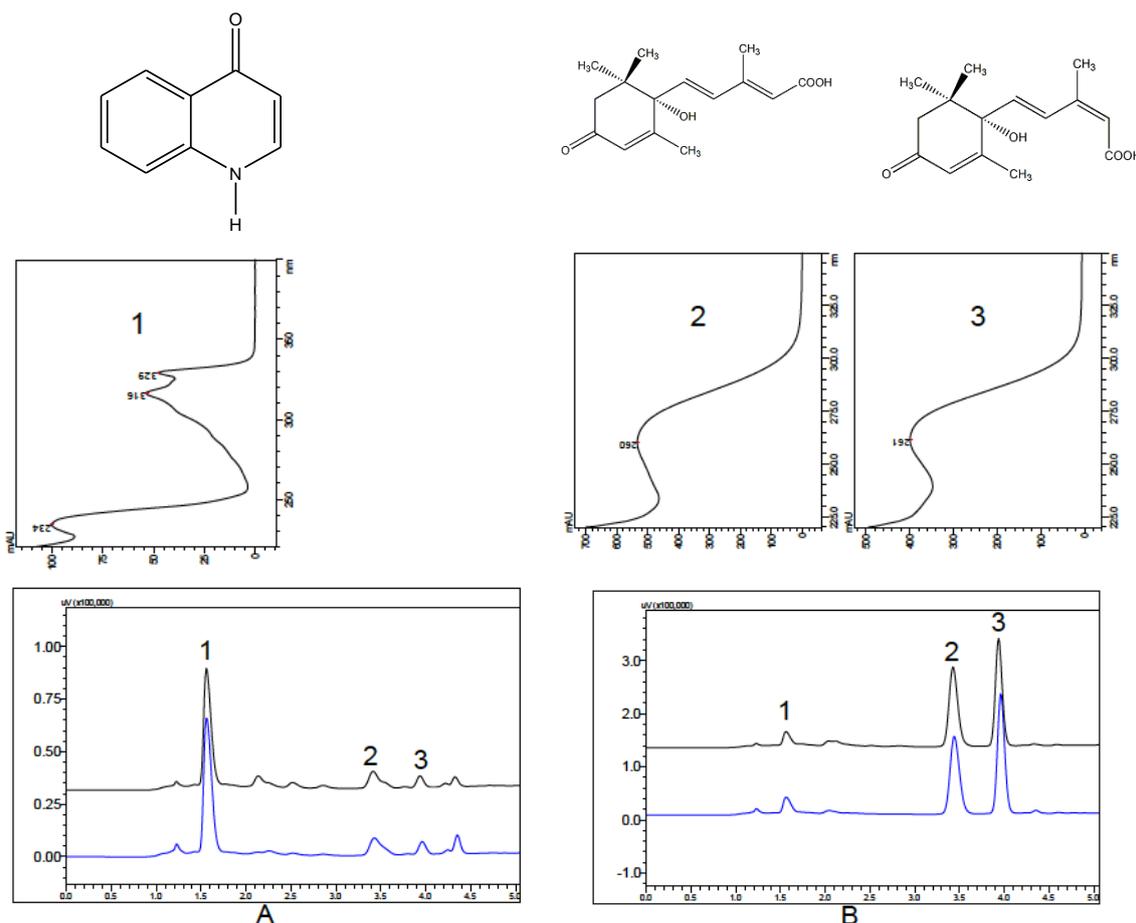


Figura 1. Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD da fração MeOH do mel da jandaíra. (A) 315 nm e (B) 270 nm. **1:** 4-quinolona, **2:** ácido (2E,4E)-abscísico e **3:** ácido (2Z,4E)-abscísico

As substâncias **1-3** foram isoladas por CLAE semipreparativo e para identificação do **1** foram realizadas as análises de IV, RMN de ^1H e ^{13}C e massas. O espectro de APT mostrou a presença de 9 sinais, sendo 6 sinais para carbonos metínicos e 3 para carbonos quaternários. As análises de todos os espectros permitiu identificar a substância como sendo a 4-quinolona.

Em trabalho recente foi verificado que o mel de castanheiro "Chestnut honey" (*Castanea sativa*) é rico em alcaloides quinolínicos com potencial atividade antinociceptiva.⁹ Um dos alcaloides identificados pela primeira vez em mel foi o 4-quinolona (743,4 mg/kg). Foi observado também que pode ocorrer uma possível transformação metabólica entre os alcaloides, uma vez que em algumas amostras o alcaloide predominante foi o

ácido kinurenico e em outras apenas os seus derivados o ácido 3-pirrolidinil-kinurenico e o seu derivado γ -lactâmico, além do 4-quinolona, apoiando assim a ideia de conversão metabólica do ácido kinurenico em seu derivado.¹⁹ Para identificação dos marcadores florais do mel do castanheiro, os constituintes químicos presentes no néctar floral coletado pelas abelhas foram analisados e dois compostos nitrogenados foram identificados como sendo o ácido kinurenico e o ácido 4-quinolona-2-carboxílico.²⁰

Nas quantificações foi verificado que o ácido (2E,4E)-abscísico está em maior quantidade nas duas amostras (Tabela 2). A maior quantidade desta substância já havia sido observada em quatro de seis amostras analisadas de méis coletados pela jandaíra de outras espécies vegetais.² A 4-quinolona **1**

apresentou maior quantidade na amostra *colubrina* (58, 85 %) em comparação com 2011 em que apresenta também a maior quantidade do tipo polínico *Anadenanthera* 42,64 % da amostra de 2010.

Tabela 2. Análises quantitativas das substâncias identificadas no mel da jandaíra, *Melipona subnitida* Ducke ($\mu\text{g g}^{-1}$ mel)

Amostras	ácido (2E,4E)- abscísico 2	ácido (2Z,4E)-abscísico 3	4-quinolona 1
Mel 2010	170,91 \pm 13,43	232,23 \pm 25,09	32,24 \pm 0,31
Mel 2011	190,55 \pm 2,81	294,33 \pm 5,42	50,56 \pm 0,39

A atividade sequestradora de radical livre (DPPH e ABTS) foi realizada com o mel puro, a fração MeOH obtida por SPE (Tabela 3) e as três substancias isoladas 4-quinolona **1**, ácido (2E,4E)-abscísico **2** e ácido (2Z,4E)-abscísico **3** (Tabela 4). A fração MeOH que tem as três substancias foi mais ativa do que as substancias puras quando testadas separadamente, o que mostra o sinergismo entre os compostos. Quando a atividade é comparada entre os compostos analisados é verificado que a 4-quinolona **1** é mais ativa

que ambos os ácidos abscísicos. O ácido (2Z,4E)-abscísico **3** foi mais ativo que o isômero *E,E*. Entre os radicais utilizados o ABTS foi mais seletivo para todas as substancias. Ainda não havia relato na literatura de atividade sequestradora de radical livre para as substancias isoladas testadas neste estudo. Em relação ao teor de fenólicos totais os resultados são semelhantes ao observado no extrato MeOH do mel da jandaíra de origem botânica diferente.²

Tabela 3. Teor de fenólicos totais e atividade sequestradora de radical livre do mel puro e frações obtidas por SPE

Amostras	Teor de fenólicos totais (mg EAG g ⁻¹ \pm DP)		DPPH (CE ₅₀)		ABTS (CE ₅₀)	
	Puro ($\mu\text{g g EAG g}^{-1}$ \pm DP)	Fração MeOH ($\mu\text{g EAG g}^{-1}$ \pm DP)	Puro ($\mu\text{g g mL}^{-1}$ \pm DP)	Fração MeOH ($\mu\text{g mL}^{-1}$ \pm DP)	Puro ($\mu\text{g g mL}^{-1}$ \pm DP)	Fração MeOH ($\mu\text{g mL}^{-1}$ \pm DP)
Mel 2011	1000 \pm 2,06	110,90 \pm 1,01	67060 \pm 0,29	49,30 \pm 0,42	9050 \pm 0,14	5,40 \pm 0,03
Mel 2010	1190 \pm 1,10	116,90 \pm 2,65	67550 \pm 0,37	48,30 \pm 0,27	9690 \pm 0,19	5,14 \pm 0,10
Trolox				2,60 \pm 0,00		
Ác. ascórbico						3,35 \pm 0,02

Média \pm desvio padrão: n=3.

Tabela 4. Atividade sequestradora de radical livre das substâncias isoladas do mel da jandaíra

Amostras	DPPH (CE ₅₀) (µg mL ⁻¹ ± DP)	ABTS (CE ₅₀) (µg mL ⁻¹ ± DP)
Ácido (2E,4E)-abscísico 2	377,03 ± 2,45	45,17 ± 0,58
Ácido (2Z,4E)-abscísico 3	381,16 ± 1,19	63,48 ± 0,52
4-quinolona 1	352,36 ± 0,84	43,74 ± 0,24

4. Conclusões

As análises físico-químicas revelaram um perfil semelhante entre as duas amostras. A análise por CLAE-DAD do mel de *Anadenanthera colubrina* coletado pela abelha sem ferrão jandaíra (*M. subnitida*) permitiu a identificação e quantificação das substâncias 4-quinolona **1**, ácido (2E,4E)-abscísico **2** e ácido (2Z,4E)-abscísico **3**. Tanto o mel puro quanto a fração MeOH apresentaram atividade antiradicalar, sendo esta fração mais ativa que os compostos testados separadamente. É verificado, portanto o potencial antioxidante do mel monofloral (*Anadenanthera colubrina*) da jandaíra que já é utilizado pela população como medicinal.

Agradecimentos

Agradecimentos à CAPES, CNPq, e FACEPE/PRONEM pelo apoio na forma de bolsas e auxílios financeiros, e o CENAPESQ por algumas análises realizadas.

Referências Bibliográficas

- ¹ Martos, I.; Ferreres, F.; Tomás-Barberán, F. A. Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, *48*, 1498. [CrossRef] [PubMed]
- ² Silva, T. M. S.; Santos, F. P.; Rodrigues, A. E.; Silva, E. M. S.; Silva, G. S.; Novaes, J. S.; Santos, F. A. R.; Camara, C. A. Phenolic compounds, melissopalynological,

physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis* **2013**, *29*, 10. [CrossRef]

³ Zanella, F. C. V.; Martins, C. F. Em *Ecologia e conservação da caatinga*; Leal, I. R.; Tabarelli, M.; Silva, J. M. C., eds.; Editora Universitária, UFPE: Recife, 2003. cap 2. [Link]

⁴ Silva, T. M. S.; Camara, C. A.; Lins, A. C. S.; Barbosa, J. M.; Silva, E. M. S.; Freitas, B. M.; Santos, F. A. R. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis* **2006**, *19*, 507. [CrossRef]

⁵ Silva, T. M. S.; Camara, C. A.; Lins, A. C. S.; Agra, M. F.; Silva, E. M. S.; Reis, I. T.; Freitas, B. M. Chemical composition, botanical evaluation and screening of radical scavenging activity of collected pollen by the stingless bees *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **2009**, *81*, 173. [CrossRef] [PubMed]

⁶ Frankel, S.; Robinson, G. E.; Berenbaum, M. R. Antioxidant capacity and correlated characteristic of 14 unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research* **1998**, *37*, 27. [Link]

⁷ Andrade, P.; Ferreres, F.; Amaral, M. T. Analysis of honey phenolic acids by HPLC, its application to honey botanical characterization *Journal of Apicultural Research* **1997**, *20*, 2281. [CrossRef]

⁸ Louveaux, J.; Maurizio, A.; Vorwahl, G. Methods of melissopalynology. *Bee World* **1978**, *59*, 139. [Link]

⁹ Bertoneclj, J.; Polak, T.; Kropf, U.; Korošec, M.; Golob, T. LC-DAD-ESI/MS analysis of flavonoids and abscisic acid with chemometric approach for the classification of Slovenian honey. *Food Chemistry* **2011**, *127*, 296. [CrossRef]

- ¹⁰ Slinkard, K.; Singleton, V. L. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* **1977**, *28*, 49. [[Link](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹ Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice- Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorisation assay. *Free Radical Biology and Medicine* **1999**, *26*, 1231. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹² Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel*. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000.
- ¹³ Gomes, T.; Feás, X.; Iglesias, A.; Estevinho, L. M. Study of organic honey from the Northeast of Portugal. *Molecules* **2011**, *16*, 5374. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴ Estevinho, L. M.; Feás, X.; Seijas, J. A.; Vázquez-Tato, M. P. Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. *Food and Chemical Toxicology* **2012**, *1250*, 258. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵ Almeida-Silva, I. A.; Silva, T. M. S.; Camara, C. A.; Queiroz, N.; Magnani, M.; Novais, J. S.; Soledade, L. E. B.; Lima, E. O.; Souza, A. L.; Souza, A. G. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. *Food Chemistry* **2013**, *141*, 3552. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶ Maia-Silva, C.; Silva, C. I.; Hrcir, M.; Queiroz, R. T.; Imperatriz-Fonseca, V. L. *Guia de plantas visitadas por abelhas na Caatinga*. Fundação Brasil Cidadão: Fortaleza, 2012. [[Link](#)]
- ¹⁷ Oliveira, P. P.; Van Den Berg, C.; Santos, F. A. R. Pollen analysis of honeys from Caatinga vegetation of the state of Bahia, Brazil. *Grana* **2010**, *49*, 66. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Ferreres, F.; Andrade, P.; Tomás-Barberán, F. A. Natural occurrence of abscisic acid in heather honey and floral nectar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1996**, *44*, 2053. [[CrossRef](#)]
- ¹⁹ Beretta, G.; Artali, R.; Caneva, E.; Orlandini, S.; Centini, M.; Facino, R. M. Quinoline alkaloids in honey: further analytical (HPLC-DAD-ESI-MS, multidimensional diffusion-ordered NMR spectroscopy), theoretical and chemometric studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2009**, *50*, 432. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁰ Truchado, P.; Ferreres, F.; Tomás-Barberán, F. A. Chromatography-tandem mass spectrometry reveals the widespread occurrence of flavonoid glycosides in honey, and their potential as floral origin markers. *Journal of Chromatography A* **2009**, *1216*, 7241. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]