



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais

BRUNA CASAGRANDE AMORIN DA SILVA

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO
***Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) DA REGIÃO SUL DO CERRADO**

Dourados – MS
2015

BRUNA CASAGRANDE AMORIN DA SILVA

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO
***Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) DA REGIÃO SUL DO CERRADO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Examinadora da Universidade Federal da Grande Dourados, como pré-requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Edson Lucas dos Santos.

Dourados – MS
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586p Silva, Bruna Casagrande Amorin da
Potencial antioxidante do mel de abelhas sem ferrão
scaptotrigona depilis (moure, 1942) da região sul do cerrado /
Bruna Casagrande Amorin da Silva -- Dourados: UFGD, 2015.
32f. il.

Orientador: Prof. Dr. Edson Lucas dos Santos..

Monografia (TCC em Biotecnologia) FCBA, Faculdade
de Ciências Biológicas e Ambientais – Universidade Federal
da Grande Dourados.

1. Meliponíneos. 2. Abelha Canudo. 3. Estresse
Oxidativo. 4. Peroxidação Lipídica I. Título.

CDD – 638.1

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela oportunidade de estar estudando, por me ajudar a suportar a saudade das pessoas e do que deixei para trás, pela força quando eu pensava em desistir nos momentos difíceis, por me mostrar o caminho quando eu me sentia perdida, pelo êxito alcançado ao longo da graduação, por cada ensinamento e por fim por mais esta etapa que se conclui em minha vida. Que minha fé aumente a cada dia.

Aos meus pais, Celso e Silvia, por me proporcionarem estudar em outra cidade, por todo o suporte dado, pelos valores ensinados, pelo apoio em minhas escolhas, por todas as conversas e conselhos, pelas broncas que me fizeram aprender e ser mais forte, por cada um dos “Vai dar tudo certo, filha! Fica calma.”, por aguentar minhas crises de ansiedade, estresse e de “Não sei o que quero”, e por sempre acreditarem em mim. Sem vocês nada disso seria possível.

À minha irmã Victória, e meu namorado Jihad, por me aguentarem nos momentos de estresse, pelo apoio, incentivo e companheirismo, por ouvirem minhas lamentações quando nada parecia dar certo, e principalmente por me descontraírem, isso foi muito importante ao longo deste processo. Ao Jihad um agradecimento especial por ter sido meu “motorista” por tantas vezes, e entender meus motivos sempre que eu resolvia que precisava ir para Ponta Porã.

À minha avó materna Iraci, pela preocupação e cuidados, especialmente com a minha alimentação (risos), e ao meu avô materno, Antonio, que há pouco mais de 1 ano e meio foi cuidar de nossa família lá do céu.

E claro, não podia deixar de agradecer meus cachorros, mesmo que eles não entendam, sou eternamente grata pela “terapia” que era, é, e sempre vai ser brincar com cada um deles. Dar e receber carinho (mesmo que de forma um pouco bruta, né, Thomas?) é a melhor coisa do mundo.

À UFGD e a cada um dos professores que me passaram um pouco dos seus conhecimentos ao longo da graduação. Vocês também tornaram possível que eu chegasse até aqui.

E por fim, agradeço à todos os membros do GEBBAM, pelo apoio ao longo desta pesquisa, pela atenção, ensinamentos e conhecimentos passados, em especial para minhas companheiras de batalha Natasha e Laiandra; à Jaqueline, pela paciência em ajudar e ensinar; à Tamaeh, por todas as vezes que passou o dia todo nos auxiliando em experimentos; à Thaliny,

por ter dedicado seu tempo a correção deste trabalho, tirar minhas dúvidas e me auxiliar; ao meu orientador Prof. Dr. Edson Lucas dos Santos, pela oportunidade de trabalhar neste grupo, pelo incentivo nas pesquisas e pela confiança depositada em mim e nas meninas; e também a Prof. Dra. Kely de Picoli Souza, sempre solícita e disposta a ajudar e ensinar. Enfim, foi muito especial passar por esta etapa da minha vida com vocês, que este dedicado grupo continue tendo o sucesso merecido e muitas conquistas ao longo de sua existência.

SUMÁRIO

RESUMO.....	07
1. INTRODUÇÃO.....	08
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1. Cerrado e abelhas sem ferrão.....	10
2.2. <i>Scaptotrigona depilis</i> (Moure, 1942) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).....	11
2.3. Mel.....	12
2.4. Composição e características físico-químicas do mel de meliponíneos vs. <i>A. mellifera</i>	12
2.5. Aplicações do mel.....	14
2.6. Estresse oxidativo.....	15
2.7. Sistema de defesa antioxidante.....	16
3. MATERIAS E MÉTODOS.....	17
3.1. Amostras de mel de <i>Scaptotrigona depilis</i>	17
3.2. Determinação do conteúdo de compostos fenólicos.....	17
3.3. Determinação do conteúdo de flavonoides.....	18
3.4. Avaliação da atividade antioxidante.....	18
3.4.1. Captura do radical livre DPPH.....	18
3.4.2. Preparação da suspensão de eritrócitos.....	19
3.4.3. Ensaio de inibição da hemólise oxidativa.....	19
3.4.4. Concentração de malondialdeído.....	20
3.4.5. Análise estatística.....	20
4. RESULTADOS.....	20
4.1. Compostos fenólicos e flavonoides.....	20
4.2. Avaliação da atividade antioxidante.....	20
4.2.1. Captura do radical livre DPPH.....	21
4.2.2. Ensaio de inibição da hemólise oxidativa.....	21
4.2.3. Concentração de malondialdeído.....	23
5. DISCUSSÃO.....	24

6. CONCLUSÃO.....	26
ABSTRACT.....	27
REFERÊNCIAS.....	28

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO *Scaptotrigona depilis* (Moore, 1942) DA REGIÃO SUL DO CERRADO

Bruna Casagrande Amorin da Silva¹

Edson Lucas dos Santos²

RESUMO

O mel é um alimento açucarado, viscoso e aromático resultante da transformação física e química do néctar das flores coletado pelas abelhas. O mel é o produto da colmeia mais explorado e comercializado, principalmente o produzido por espécies *Apis mellifera*. Porém, cresce a cada dia o interesse pelo mel de abelhas sem ferrão, também denominadas meliponíneos. A composição e atividades biológicas dos méis destas abelhas ainda são pouco estudadas e conhecidas pela ciência, embora estes sejam utilizados há muito tempo em comunidades indígenas e rurais na alimentação e para fins medicinais. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi quantificar os compostos fenólicos e avaliar a atividade antioxidante do mel da abelha sem ferrão *Scaptotrigona depilis* encontrada na região sul do Cerrado. Os compostos fenólicos presentes neste mel foram quantificados através de métodos colorimétricos. A atividade antioxidante foi avaliada pela captura do radical livre DPPH e a inibição da peroxidação lipídica induzida pelo agente oxidante AAPH. Foi verificada a presença de compostos fenólicos no mel de *S. depilis* e também atividade antioxidante nos ensaios *in vitro*, sendo capaz de capturar o radical livre DPPH e inibir a peroxidação lipídica em eritrócitos humanos. Porém, outros estudos precisam ser realizados para avaliar esta e outras atividades biológicas do mel de meliponíneos, incentivando assim, o consumo destes méis, a prática da meliponicultura e preservação das espécies de abelhas sem ferrão.

PALAVRAS-CHAVE: Meliponíneos, abelha canudo, preservação, estresse oxidativo, peroxidação lipídica.

¹ Graduanda em Biotecnologia, Universidade da Grande Dourados (UFGD) Rodovia Dourados - Itahum, Km 12, CEP 79.804-970 - Dourados - MS – Brasil.

² Professor Doutor, Universidade da Grande Dourados (UFGD) Rodovia Dourados - Itahum, Km 12, CEP 79.804-970 - Dourados - MS – Brasil.

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é um dos biomas mais ricos do Brasil, porém há anos vem sofrendo com o desmatamento e conseqüentemente com a diminuição de sua biodiversidade (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2015). Grande parte de sua fauna é constituída por insetos, dos quais aproximadamente 35% são abelhas, responsáveis pela polinização de flores e pela produção de própolis, cera e mel, sendo este último, o produto mais conhecido da colmeia (SILVA et al., 2006; AGUIAR et al., 2007).

O mel é resultante da transformação física e química do néctar de flores (MARQUES, 1989). Suas características físico-químicas, como coloração, aroma, sabor, viscosidade, quantidade de açúcares redutores, proteínas, compostos fenólicos, entre outras substâncias presentes na sua composição e conseqüentemente suas atividades biológicas, dependem diretamente da planta de onde o néctar foi retirado, bem como a espécie da abelha (MARQUES, 1989; TRUCHADO et al., 2001; PEREIRA et al., 2003; SILVA et al., 2006; LIRA et al., 2014).

Este produto é utilizado há milhares de anos, não só como alimento, mas também no tratamento de enfermidades, na fabricação de bebidas, na composição de alimentos, em rituais religiosos, entre outras aplicações (GUIMARÃES, 1989). Na medicina popular é utilizado no tratamento de gripes e resfriados, seja na forma de chás, xaropes, ou *in natura*; e ainda como cicatrizante (SILVA et al., 2006).

Apesar do mel fabricado pela espécie *Apis mellifera* ser o mais conhecido, utilizado e estudado, é crescente o interesse pelo mel das abelhas sem ferrão, denominadas meliponíneos, devido ao seu valor comercial e propriedades terapêuticas (SOUZA et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2013). Dentre as abelhas sem ferrão, as mais populares são as abelhas *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia), *Tetragonisca angustula Latreille* e *Tetragonisca fiebrigi* (jataí), *Plebeia* sp. (mirim) e *Scaptotrigona* sp. (canudo) (OLIVEIRA et al., 2013).

Os meliponíneos são amplamente encontrados por todo o Brasil, e têm um papel importante na manutenção dos ecossistemas do país (PEDRO, 2014). Além disto, o mel destas espécies são muito utilizados em zonas rurais e indígenas tanto na alimentação, quanto para fins medicinais (BOBANY et al., 2010). A espécie *S. depilis*, a qual pode ser encontrada na região centro-sul do Brasil e em alguns outros países do continente americano (PEDRO, 2014), fabrica um mel escuro, saboroso e aromático, porém pouco estudado a respeito de suas características

físico-químicas (OLIVEIRA et al., 2013) e suas atividades biológicas; fato lamentável, visto que tais estudos poderiam despertar o interesse comercial deste mel, bem como a criação desta espécie de abelha.

Atualmente diferentes atividades do mel, tanto do mel de abelhas sem ferrão, quando de *A. mellifera* já foram comprovadas cientificamente, como antimicrobiano (MIORIN et al., 2003; BOBANY et al., 2010), cicatrizante (BOBANY et al., 2010), antioxidante (LIANDA, 2009; OLIVEIRA et al., 2012; LIRA et al., 2014; SPILIOTI et al., 2014) e citotóxica (SPILIOTI et al., 2014). Nesta perspectiva, por possuir diferentes propriedades biológicas, além de ser considerado um alimento saudável, prébiótico e uma boa fonte de energia, o mel tem despertado interesse e também na sua incorporação na alimentação de quem busca uma melhor qualidade de vida e também no tratamento de doenças que envolvem o estresse oxidativo (SILVA et al., 2006).

O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre a produção de compostos oxidantes e o sistema de defesa antioxidante do organismo, o que resulta no acúmulo intracelular de espécies reativas (ER) (PEREIRA, 2010). Os compostos oxidantes podem ser gerados por fatores endógenos no processo de respiração celular e sistemas de defesa imunológicos; e exógenos como poluição, radiação, alimentação inadequada, drogas, entre outros fatores (BARBOSA et al., 2010; MARTELLI e NUNES, 2014). Algumas doenças estão associadas ao estresse oxidativo, dentre elas destacam-se a aterosclerose, diabetes, obesidade, hipertensão, doenças renais, transtornos neurodegenerativos, câncer, além do envelhecimento precoce (ROBERTS e SINDHU, 2009). Desta forma, é importante buscar meios de manter o sistema antioxidante em equilíbrio no organismo humano, prevenindo ou tratando danos causados por tais doenças.

Existem dois sistemas de defesa antioxidante: enzimático e não enzimático, sendo o segundo é constituído por alguns agentes endógenos e principalmente por antioxidantes dietéticos, como as vitaminas A, C e E; minerais como o selênio, zinco, cobre e magnésio; e compostos fenólicos, com destaque para os flavonoides (BIANCHI e ANTUNES, 1999; BARBOSA et al., 2010; NASSER et al., 2010). Os antioxidantes dietéticos se encontram principalmente em frutas, legumes e verduras, no entanto, pesquisas apontam o mel como um importante antioxidante, o qual demonstra potencial semelhante aos outros alimentos, uma vez que possui compostos fenólicos que atuam como varredores de radicais, além de várias enzimas (GHELDOLF et al., 2002; BLASA et al., 2007).

O mel de abelhas sem ferrão do sul do Cerrado ainda são pouco estudados, sendo necessária uma análise de sua composição e das suas propriedades biológicas. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi quantificar compostos fenólicos e avaliar o potencial antioxidante do mel de abelhas sem ferrão *S. depilis* (Moure, 1942) encontradas na região sul do Cerrado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cerrado e abelhas sem ferrão

O Brasil é um país rico em biodiversidade, com vários ecossistemas que concentram uma enorme fauna e flora (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2015). Entre estes ecossistemas está o Cerrado, que é o segundo maior bioma brasileiro, e detém cerca de 5 % da biodiversidade do planeta, porém é também um dos biomas mais ameaçados do país, devido ao desmatamento (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2015). A vegetação no Cerrado varia de acordo com fatores climáticos, tipo de solo, relevo, entre outras características ambientais, e reflete na diversidade de sua fauna (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2015; AGUIAR et al., 2004). Estima-se que cerca de 320.000 espécies de animais vivam no Cerrado (AGUIAR et al., 2004) e destes, aproximadamente 90.000 são insetos, sendo que cerca de 35% são abelhas, as quais desempenham um importante papel na polinização das flores e produção de mel entre outros produtos da colmeia, como própolis e cera (AGUIAR et al., 2007).

Praticamente todo o mel consumido e comercializado no mundo provém de *Apis mellifera*. No entanto, nas regiões tropicais e subtropicais existem cerca de 400 espécies de abelhas que também podem produzir mel, chamadas de meliponíneos ou abelhas sem ferrão, assim chamadas por possuírem o ferrão atrofiado e desta forma não serem capazes de ferocar (OLIVEIRA et al., 2012).

No Brasil existem 244 espécies de meliponíneos descritas e outras 89 formas ainda não descritas, que se encontram distribuídos por todo o país e são de grande importância na manutenção dos ecossistemas brasileiros (PEDRO, 2014). As mais espécies mais conhecidas são: *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia), *Tetragonisca angustula Latreille* e *Tetragonisca fiebrigi* (jataí), *Plebeia* sp. (mirim) e *Scaptotrigona* sp. (canudo) (OLIVEIRA et al., 2013).

Apesar de existirem poucos estudos a respeito das características físico-químicas que possibilitam a comercialização dos méis produzidos pelas abelhas sem ferrão (SOUZA et al., 2004) e de suas propriedades terapêuticas, há demanda crescente no mercado, devido ao seu valor ecológico e comercial, chegando a ser superior a de *A. mellifera*, embora esta última seja mais produtiva (OLIVEIRA et al., 2013).

Na região sul do Cerrado, a apicultura é uma prática bastante comum, especialmente entre a população rural. Embora esta seja uma região onde grande parte da vegetação nativa deu lugar a áreas agrícolas, urbanas e de pastagem (SILVA et al., 2010), sua fauna ainda é bastante rica, e abelhas sem ferrão como *Melipona orbignyi*, *M. quadrifasciata*, *T. fiebrigi* e *S. depilis* podem ser encontradas, o que tem despertado interesse na prática da meliponicultura e na realização de estudos sobre estas abelhas e seus produtos.

2.2. *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)

Dentre as abelhas sem ferrão citadas, neste estudo destacamos o gênero *Scaptotrigona*, por ser um dos mais produtivos encontrados no Brasil (VENTURIERI, 2004). Existem 22 espécies de abelhas descritas do gênero *Scaptotrigona*, conhecidas popularmente como abelha canudo, sendo que cerca de 10 ocorrem no Brasil (OLIVEIRA et al., 2013; PEDRO, 2014).

A espécie *S. depilis* é encontrada nos estados de Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo (PEDRO, 2014). Esta abelha possui colônias numerosas e necessita de grande quantidade de alimento para manter a colônia, sendo assim possui hábito generalista em resposta à diversidade de fontes florais disponíveis (FERREIRA et al., 2010). Os autores ainda relatam que as fontes florais de pólen utilizadas por *S. depilis* no Mato Grosso do Sul foram preferencialmente as famílias Myrtaceae (*Eucalyptus* spp.) e Mimosaceae, devido a disponibilidade na região.

Em geral o mel da abelha canudo apresenta cor âmbar escuro e é mais líquido que o mel de *A. mellifera*, além de conter maior quantidade de compostos fenólicos (LIRA et al., 2014).

Akatsu (2009) constatou que a própolis de *S. depilis* tem atividade antimicrobiana contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Salmonella bongori*, e os fungos *A. niger*, *Aspergillus* sp., e *Paecilomyces variotti*.

Já existem trabalhos sobre as características microbiológicas, físico-químicas e microscópicas do mel de *S. depilis* (OLIVEIRA et al., 2013). No entanto, não há estudos específicos a respeito de suas propriedades terapêuticas.

2.3. Mel

O mel é uma substância açucarada, viscosa e aromática que resulta da transformação física e química do néctar das flores colhido pelas abelhas (MARQUES, 1989; PEREIRA, 2003).

A transformação física se dá através da desidratação do néctar por evaporação e absorção no organismo das próprias abelhas (GUIMARÃES, 1989). A transformação química resulta da ação de enzimas presente nas glândulas do inseto, como a invertase, a diastase (α e β amilase), a glicose oxidase e a catalase (GUIMARÃES, 1989; MARQUES, 1989; PEREIRA et al., 2003). A invertase é responsável pela transformação da sacarose do néctar em frutose e glicose, principais constituintes do mel após a maturação (GUIMARÃES, 1989). A glicose-oxidase é a principal responsável pela formação de compostos que conferem a atividade antibacteriana do mel, pois ao reagir com a glicose forma ácido glucônico e peróxido de hidrogênio (RACOWSKY et al., 2007).

A coloração, aroma, sabor, viscosidade e as propriedades medicinais de cada mel variam conforme a espécie de plantas da qual se obtém o néctar (MARQUES, 1989; PEREIRA et al., 2003). Outro fator de grande influência é a espécie de abelha e a presença de diferentes metabólitos secundários nas plantas (TRUCHADO et al., 2001).

2.4. Composição e características físico-químicas do mel de meliponíneos vs. *A. mellifera*

Ao coletar o néctar das flores e levar a colmeia, o mel leva em torno de 4 a 5 dias para maturar, a concentração de açúcar deve atingir 78° Brix e os favos devem estar operculados com cera, só então o mel está pronto para coleta (PEREIRA et al., 2003). Neste momento a composição do mel é basicamente carboidratos e água, porém uma grande variedade de outros componentes em pequenas quantidades também aparece, como proteínas, minerais, vitaminas, ácidos e seus ésteres, cetonas e aldeídos e constituintes aromáticos, os quais podem variar conforme a origem do néctar (GUIMARÃES, 1989; MARQUES, 1989; BRASIL, 2000; PEREIRA et al., 2003).

A quantidade de água no mel é um dos fatores de maior importância, pois influencia diretamente na sua viscosidade, coloração, densidade, cristalização, sabor, conservação e umidade (GUIMARÃES, 1989; PEREIRA et al., 2003). A maior parte da água está ligada às moléculas de açúcar, dificultando o crescimento e desenvolvimento de micro-organismos, o que confere ao mel poder de conservação por longos períodos (PEREIRA et al., 2003; GONÇALVES, 2010). O mel de *A. mellifera* contém em média 17% de água, podendo conter no máximo 20% (BRASIL 2000; PEREIRA, 2003), enquanto o mel de meliponíneos possui maior teor de umidade, normalmente entre 25 a 29 %, o que requer maior cuidado na manipulação, pois pode propiciar o desenvolvimento de alguns micro-organismos (SOUZA et al., 2004; LIRA et al., 2014).

Lira et al. (2014) constataram que o mel de abelhas sem ferrão é menos denso e doce e mais ácido, quando comparado ao mel de abelhas *A. mellifera*, além disso, o teor de açúcares redutores são semelhantes entre ambos, tendo média entre 50 e 65 %, aspecto que também é influenciado pela origem do néctar.

Em relação à quantidade de proteínas, a variação também está relacionada à flora e à presença de enzimas introduzidas pelas próprias abelhas (LIRA et al., 2014). Os méis das abelhas sem ferrão possuem um valor de proteínas consideravelmente maior em relação à *A. mellifera*, o qual contém em média 34,23 mg de Albumina sérica bovina (ASB)/100 g, enquanto os méis de *Scaptotrigona* sp. foi constatado em média 145,45 mgASB/100 g e *Tetragonisca angustula* 109,40 mgASB/100 g (LIRA et al., 2014).

Outros componentes importantes do mel são os compostos fenólicos, que estão ligados às atividades antioxidante, antimicrobiana e antitumoral (GIADA, 2006; BLASA 2007; LIANDA, 2009). Podemos encontrar desde baixas quantidades como 1,1 mg de equivalente a ácido gálico (EAG)/100g (SPILIOTI et al., 2014) até mais de 200 mg EAG/100g de mel (OLIVEIRA et al., 2012) tanto para méis de meliponíneos quanto de *A. mellifera*.

A legislação brasileira padroniza apenas o mel de *Apis mellifera* para fins de comercialização, não havendo uma legislação para os méis de abelhas sem ferrão (OLIVEIRA et al., 2013).

Vale ressaltar que as características físico-químicas e a composição química dos méis são influenciadas por fatores como a espécie de abelha, a região onde foi coletado, e principalmente

ao fato do néctar utilizado como matéria-prima ter origem em mais de 2500 tipos de flores de plantas diferentes, fazendo com que nenhum mel seja igual ao outro (SILVA et al., 2006).

2.5. Aplicações do mel

O mel é utilizado pelo homem desde as civilizações mais antigas como fonte de alimento e também como recurso medicinal empregado no tratamento de feridas, queimaduras, além do uso como antibiótico, antiulceroso, relaxante do sistema nervoso, entre outras aplicações (SILVA et al., 2006).

Pesquisas e aplicações conhecidas relatam principalmente sobre o mel de *A. mellifera*, no entanto sabe-se que o uso do mel de abelhas jataí (*Tetragonisca angustula* e *Tetragonisca fiebrigi*), por exemplo, assim como de outras abelhas sem ferrão é comum em terapias populares para tratar gripes, resfriados, na cicatrização de ferimentos, entre outros fins, principalmente nas zonas rurais e indígenas (BOBANY et al., 2010).

O mel é um poderoso agente antimicrobiano devido à presença de enzimas, pH ácido, baixa atividade de água, o que desfavorece o crescimento de bactérias, entre outros fatores (SILVA et al., 2006). O mel e a própolis de *T. angustula* e *A. mellifera* demonstraram atividade contra *Staphylococcus aureus* (MIORIN et al., 2003). Bobany et al. (2010) concluíram após experimento com cães que o mel de abelha jataí (*T. angustula*) tem ação antimicrobiana em cultivo misto de bacilos, cocos e leveduras, encontrados em otites externas de cães.

Também foi relatado, através de testes *in vitro*, atividade anticancerígena em méis coletados na Grécia com diferentes origens nectaríferas, os quais foram capazes de matar até 60% das células cancerígenas (SPILIOTI et al., 2014).

Além disto, outros estudos demonstram que o mel tem capacidade antioxidante, a qual é semelhante à de muitas frutas e legumes, uma vez que possuem compostos fenólicos, minerais e vitaminas e outras substâncias ligadas a esta atividade biológica (GHELDOLF et al., 2002). Testes *in vitro* comprovaram atividade antioxidante tanto em méis de *A. mellifera* quanto em méis de meliponíneos (OLIVEIRA et al., 2012; LIRA, et al., 2014; SPILIOTI et al., 2014).

As aplicações e atividades biológicas já constatadas, além do fato de ser um alimento saudável, prébiótico e ótima fonte de energia, têm despertado o interesse na incorporação do mel

de abelha em vários produtos alimentícios, devido ao seu poder adoçante e importância terapêutica (SILVA et al., 2006).

2.6. Estresse oxidativo

No processo de respiração celular, as mitocôndrias utilizam o oxigênio para produzir (ATP), através da cadeia transportadora de elétrons (MARTELLI e NUNES, 2014). Neste processo há formação de espécies reativas (ER), as quais, quando em altas concentrações, podem ser tóxicas às células e resultar no estresse oxidativo (MARTELLI e NUNES, 2014; SILVA e JASIULIONIS, 2014). Desta maneira, o estresse oxidativo é o desequilíbrio entre a produção de compostos oxidantes e o sistema de defesa antioxidante, que resulta no acúmulo intracelular de ERs (PEREIRA, 2010).

As ER são átomos, moléculas, ou íons derivados do oxigênio, que normalmente possuem alta reatividade (MARTELLI e NUNES, 2014). São representados por três classes: espécies reativas de oxigênio (EROs), espécies reativas de enxofre (EREs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), podendo ainda ser divididas em dois grupos: os radicais livres, os quais possuem um ou mais elétrons não pareados nos orbitais externos, e os compostos não-radicais, que são mais estáveis, pois não possuem elétrons livres, mas podem reagir com outras moléculas (MAGDER, 2006; MARTELLI e NUNES, 2014). As principais e mais comuns EROs são o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^-) (SILVA e JASIULIONIS, 2014).

ER, principalmente EROs, são necessárias em baixas concentrações para o sinal de transdução em células normais, antes de serem eliminadas (SOSA et al., 2013). No organismo, enzimas também contribuem para a produção de O_2^- , como a NADPH oxidase (Nox), produzida por células do sistema imunológico (MAGDER, 2006).

Existe ainda a influencia de fatores externos, os quais podem induzir a processos oxidativos, como poluição do ar, radiação UV, maus hábitos alimentares, tabagismo, consumo excessivo de bebidas alcoólicas, uso de drogas, excesso de exercícios físicos, estresse psicológico, entre outros fatores (BARBOSA et al., 2010; MARTELLI e NUNES, 2014; SILVA e JASIULIONIS, 2014).

O processo de estresse oxidativo leva à oxidação de importantes biomoléculas, como o DNA, RNA, lipídeos e proteínas, e como consequência a perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, causando dano oxidativo contra células e tecidos. (BARBOSA et al., 2010; SILVA e JASIULIONIS, 2014). Tal dano é causado principalmente pelo processo de peroxidação lipídica na membrana celular, (MAGDER, 2006), o qual produz o dialdeído malondialdeído (MDA), utilizado como parâmetro para se verificar a ação de ER no organismo (LIMA E ABDALLA, 2001; ANTUNES et al., 2008). O MDA tem efeito citotóxico e genotóxico e é encontrado em níveis elevados em organismos com patologias ligadas ao estresse oxidativo (STEGHENS et al., 2001; ANDRADE et al., 2005;).

O estresse oxidativo é um dos principais motivos do desencadeamento de doenças humanas crônicas não transmissíveis, entre elas a aterosclerose, diabetes tipo 2, obesidade, hipertensão, doenças renais, transtornos neurodegenerativos, câncer, além do envelhecimento precoce (ROBERTS e SINDHU, 2009). Desta maneira, pesquisas tem se dedicado à busca por compostos antioxidantes com potencial para prevenção e/ou tratamento destas patologias.

2.7. Sistema de defesa antioxidante

O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação das ER, através de diferentes mecanismos de ação: o sistema de prevenção, que impede a formação dos radicais livres ou espécies não-radicaais; o sistema varredor, o qual impede que estes atuem; e o sistema de reparo, que contribui para o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas (CLARKSON e THOMPSON, 2000; BARBOSA et al., 2010).

As células possuem dois sistemas de defesa contra os danos causados pelas ER, sendo um sistema de defesa enzimático e o outro não enzimático (BARBOSA et al., 2010)

No sistema de defesa antioxidante enzimático estão as enzimas superóxido dismutase (SOD), glutathiona peroxidase (GPx) e catalase, as quais estão presentes no citoplasma em concentrações de milimolares e também na matriz mitocondrial (PEREIRA, 2010). Essas enzimas agem por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de ER (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

O sistema de defesa não enzimático é constituído por agentes endógenos e por antioxidantes dietéticos (NASSER et al., 2010). Os estrógenos e outros hormônios atuam como

antioxidantes endógenos, inibindo ou regulando a ação de ER (ARAÚJO, 2002; RENZ, 2003). Os antioxidantes dietéticos se encontram principalmente em frutas, legumes e verduras, no qual os compostos que mais se destacam são o ácido ascórbico (vitamina C), o α -tocoferol e β -caroteno, precursores das vitaminas E e A, respectivamente; carotenoides como licopeno, luteína e zeaxantina; minerais, principalmente zinco, cobre, selênio e magnésio; compostos fenólicos, sendo os mais estudados o ácido caféico, o ácido gálico e o ácido elágico (BIANCHI E ANTUNES, 1999; RODRIGO et al., 2007).

É comprovado que a ingestão regular de antioxidantes provenientes da dieta, como flavonas e ácido ascórbico, advindo do suco de laranja, aumentam a proteção contra o efeito oxidante no sangue de seus consumidores habituais (NASSER et al., 2010).

Como o mel possui substâncias com efeito antioxidante como compostos fenólicos, enzimas, vitaminas e minerais, este tem despertado ao interesse de estudos a respeito de sua capacidade de proteger as células do efeito oxidante (BRASIL, 2000; PEREIRA et al., 2003; SILVA et al., 2006; RODRIGO et al., 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostras de mel de *Scaptotrigona depilis*

As amostras do mel foram coletadas no município de Dourados – MS – Brasil. Este foi armazenado em tubos estéreis a -20° C. As soluções do mel foram preparadas no momento da realização de cada experimento a partir da adição de água ultrapura ou solução salina 0,9%.

3.2. Determinação do conteúdo de compostos fenólicos

A concentração de compostos fenólicos presentes no mel foi determinada de acordo com o método colorimétrico Folin-Ciocalteu (Meda et al., 2005). Para esta finalidade, 5 g de mel de *S. depilis* foram misturados com 50 mL de água ultrapura, resultando na concentração de 100 mg/mL. Posteriormente foi acrescentado 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio 14% (Na_2CO_3), sendo incubados com 500 μL da solução de mel. A absorvância foi lida a 760 nm após incubação de 2 h à temperatura ambiente no escuro. O ácido

gálico (0,4-11 $\mu\text{g/mL}$) foi utilizado como padrão para produzir uma curva de calibração. A média de três leituras foi utilizada para determinar o conteúdo de compostos fenólicos, que foi expresso em mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de mel (EAG/100g).

3.3. Determinação do conteúdo de flavonoides

O conteúdo de flavonoides do mel de *S. depilis* foi determinado de acordo com o método descrito por Liberio et al. (2011), com algumas modificações. Para esta finalidade, 5 g de mel de *S. depilis* foram misturados com 50 mL de água ultrapura, resultando na concentração de 100 mg/mL. Posteriormente foi adicionado 4,5 mL uma solução de Cloreto de Alumínio (AlCl_3) 2% hexahidrato em metanol, sendo incubados com 500 μL da solução de mel. A absorbância foi lida a 415 nm após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente no escuro. A quercetina (0,4-11 $\mu\text{g/mL}$) foi usada como um padrão para produzir uma curva de calibração. A média de três leituras foi utilizada para determinar o conteúdo de flavonoides, o qual foi expresso em mg equivalentes de quercetina por 100 g de mel (mgEQ/100g).

3.4. Avaliação da atividade antioxidante

3.4.1. Captura do radical livre DPPH

A atividade antioxidante foi inicialmente determinada pelo ensaio de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), tal como descrito por Gupta e Gupta (2011), com algumas modificações. O mel foi diluído através da adição 3 g de mel para de 1,5 mL de água ultrapura, para se obter a concentração inicial de 2000 mg/mL. O ensaio consiste na mistura de 1,8 mL de solução de DPPH (0,11 mM) em etanol 80% com 200 μL de diferentes concentrações do mel (25 – 200 mg/mL) seguido de homogeneização. Após 30 min de incubação a temperatura ambiente e no escuro, a quantificação do radical DPPH foi mensurada em espectrofotômetro a 517 nm. O ácido ascórbico foi utilizado como antioxidante de referência. Foram realizados três experimentos independentes em duplicata. A solução de DPPH, sem qualquer antioxidante, foi utilizada como controle. A porcentagem de inibição foi calculada a partir do controle com a seguinte equação:

$$\text{Inibição do DPPH (\%)} = (1 - \text{Abs}_{\text{amostra}} / \text{Abs}_{\text{controle}}) \times 100$$

3.4.2. Preparação da suspensão de eritrócitos

Foi coletado o sangue de doadores saudáveis, em seguida colocado em tubos com citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), os quais foram centrifugados, retirado o plasma, lavado 3 vezes com solução salina (NaCl) 0,9%, e centrifugado a 2000 rpm. Ao final, foi preparada uma suspensão de eritrócitos a 10% em NaCl 0,9%.

3.4.3. Ensaio de inibição da hemólise oxidativa

Uma suspensão de eritrócitos à 10% foi utilizada para verificar o efeito protetor do mel contra a hemólise oxidativa. O ensaio foi conduzido de acordo com o método descrito por Campos et al. (2014), com algumas modificações. Para isso 3 g de mel foram diluídos em 10 mL de NaCl 0,9%, obtendo-se a concentração inicial de 300 mg/mL. 0,1 mg de ácido ascórbico, utilizado como antioxidante padrão, foram diluídos em 1 mL de NaCl 0,9%, obtendo-se a concentração inicial de 100 $\mu\text{g/mL}$. Os eritrócitos foram pré-incubados à 37° C por 30 min na presença das diferentes concentrações de mel (10 – 75 mg/mL) ou ácido ascórbico (10 – 75 $\mu\text{g/mL}$) utilizado como controle. Após este período, 500 μL de 2,2-Azo-bis-(2-amidinopropano) (AAPH) 50 mM foi adicionada. Essa mistura foi incubada a 37 ° C por 4 horas com agitação periódica. Eritrócitos com AAPH foram utilizados como controle. A hemólise oxidativa foi determinada por espectrofotometria após a incubação das amostras por 120, 180 e 240 min. As amostras foram centrifugada a 2000 rpm por 5 min, logo após foram pipetados 200 μL do sobrenadante e adicionados em cubetas com 1800 μl de NaCl 0,9%. A absorbância foi lida a 540 nm. Quatro experimentos independentes foram realizados em duplicata. A porcentagem de hemólise oxidativa foi mensurada com a seguinte fórmula, onde (A) é a absorbância das amostras e (B) é o total de hemólise

$$\% \text{ Inibição da hemólise oxidativa} = A/B \times 100$$

3.4.4. Concentração de malondialdeído

Uma suspensão de eritrócitos à 10% foi utilizada para verificar o efeito protetor do mel contra a peroxidação lipídica, através da dosagem da concentração de malondialdeído (MDA). O mel e o ácido ascórbico foram diluídos em NaCl 0,9% tal como no método de Ensaio de Inibição da hemólise oxidativa. Os eritrócitos foram pré-incubados à 37 °C por 30 min na presença das diferentes concentrações de mel (10 – 75 mg/mL) ou ácido ascórbico (10 – 75 µg/mL), utilizado como controle. Posteriormente uma solução de AAPH 50 mM foi adicionada, e essa mistura foi incubada a 37 °C por 4 horas com agitação periódica. Após este período, as amostras foram centrifugadas à 2000 rpm por 5 min, e uma alíquota de 500 µL do sobrenadante foi misturada a 1000 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 10 nM. Como controle padrão, 500 µL de solução de (MDA) 20 µM foram adicionados a 1000 µL de TBA. As amostras foram incubadas à 96 °C por 45 min. Em seguida foram resfriadas por 15 min, adicionados 4 mL de álcool butílico e então as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 min. 2 mL do sobrenadante foi transferido para cubetas e a absorbância lida à 532 nm. Foram realizados três experimentos independentes em duplicatas. Os níveis de MDA nas amostras foram expressos em nmol/mL, através da seguinte fórmula:

$$\text{MDA} = \text{Absorbância da amostra} \times (20 \times 220,31 / \text{média da absorbância padrão MDA})$$

3.4.5. Análise estatística

Os resultados foram apresentados com a média dos experimentos realizados, avaliados por ANOVA através do teste de Dunnett com significância estatística ($p < 0.05$).

4. RESULTADOS

4.1. Compostos fenólicos e flavonoides

A quantidade de compostos fenólicos e flavonoides encontrada no mel de *S. depilis* foi de 0,33 µgGAE/g e 0,073 µgQE/g, respectivamente.

4.2. Avaliação da atividade antioxidante

4.2.1. Sequestro de radicais livres DPPH

A concentração necessária de mel de *S. depilis* para inibir 50% do radical livre DPPH foi de $163,4 \pm 73,1$ mg/mL. O mel se mostrou capaz de capturar $59,8 \pm 2,9$ % dos radicais na concentração de 200 mg/mL (Fig. 1).

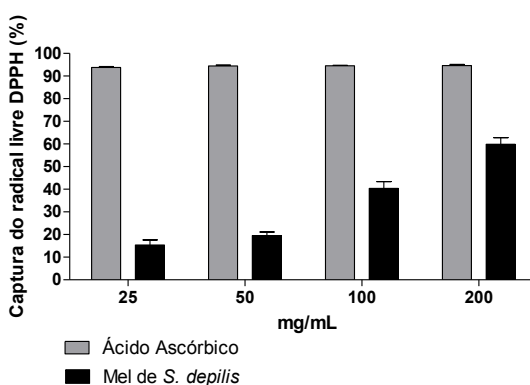


Fig. 1. Porcentagem de captura do radical livre DPPH em diferentes concentrações de ácido ascórbico e mel de *S. depilis*.

4.2.2. Ensaio de inibição da hemólise oxidativa

O mel de *S. depilis* foi avaliado pela sua capacidade em proteger eritrócitos da hemólise oxidativa induzida pelo agente oxidante AAPH. Este foi capaz de proteger ao longo de todo o período experimental, seu desempenho foi tempo-dependente, sendo capaz de inibir 80,5% da hemólise na concentração de 75 mg/mL por até 240 min (Fig. 2). O ácido ascórbico, utilizado como antioxidante padrão, inibiu 67 e 74 % da hemólise oxidativa nas concentrações de 50 e 75 μ g/mL, respectivamente, por até 240 min (Fig. 2). Quando incubados somente com mel de *S. depilis* os eritrócitos não sofreram hemólise em nenhuma das concentrações ou tempos (Fig. 3).

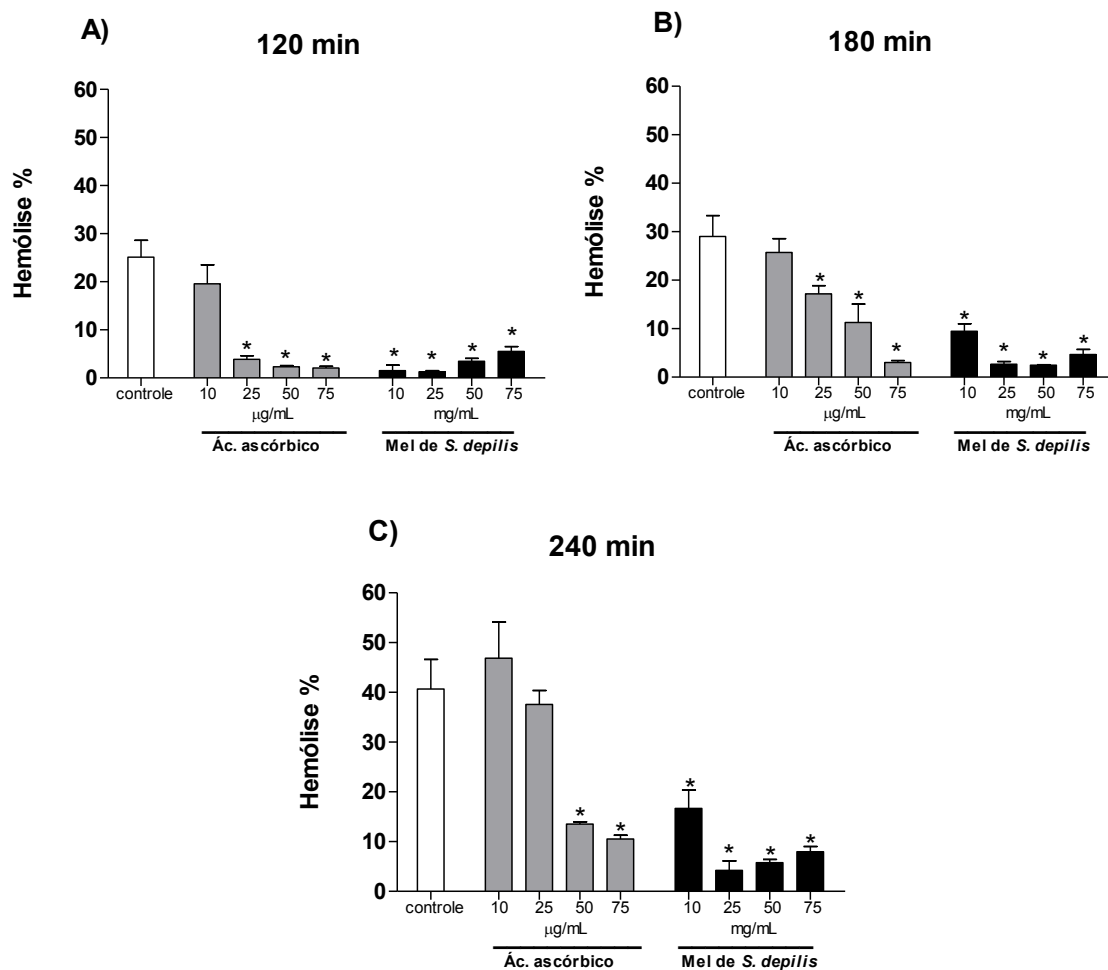


Fig. 2. Efeito das diferentes concentrações de ácido ascórbico (antioxidante padrão) e do mel de *S. depilis* sob a hemólise oxidativa em eritrócitos humanos induzida por AAPH após (A) 120, (B) 180, e (C) 240 min de incubação dos grupos. Os valores foram expressos de acordo com a média de quatro experimentos independentes em duplicata. *Significância estatística dos resultados ($p < 0.05$) quando comparado aos grupos tratados com os eritrócitos que receberam apenas AAPH (controle) em seus respectivos tempos.

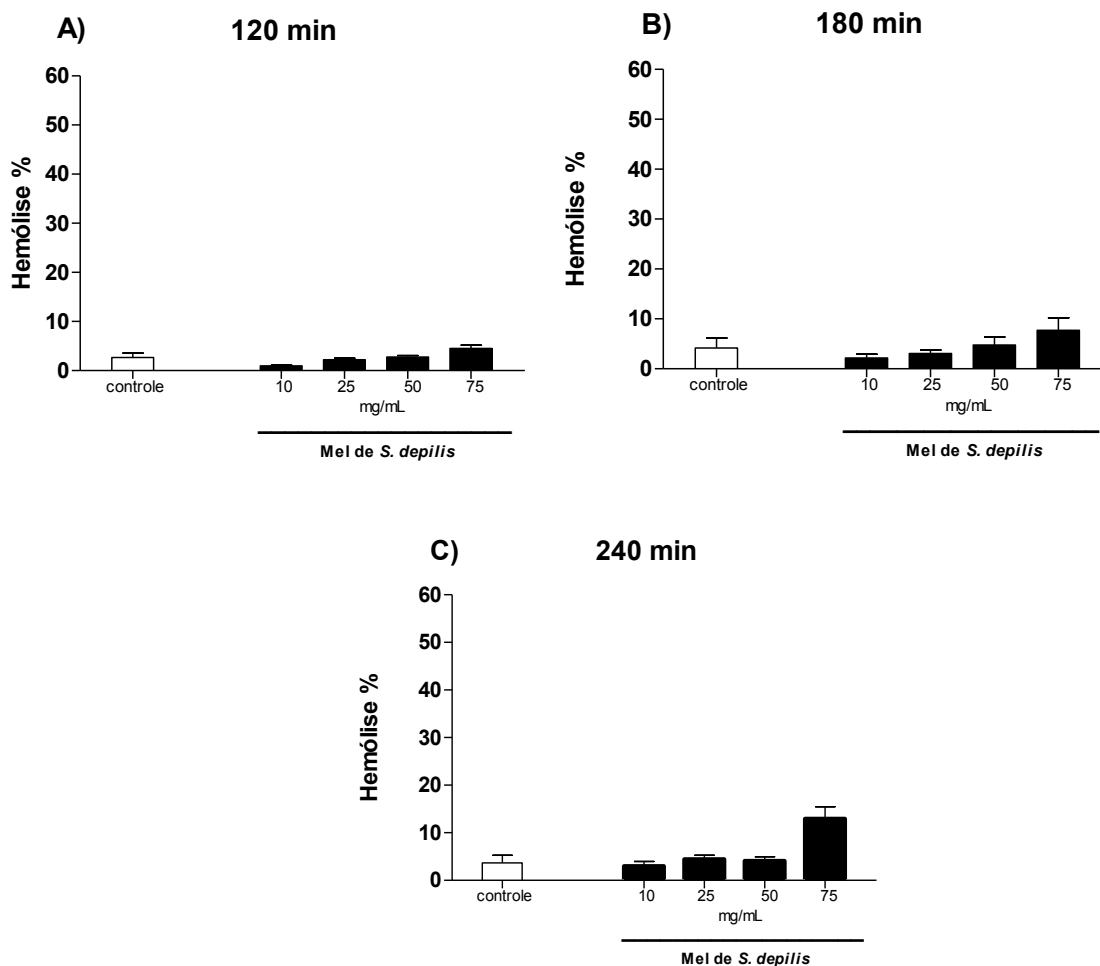


Fig. 3. Efeito da incubação de eritrócitos com diferentes concentrações de mel de *S. depilis* após (A) 120, (B) 180, e (C) 240 min. Os valores foram expressos de acordo com a média de quatro experimentos independentes em duplicata. Todos os resultados não foram significativos em teste de significância estatística ($p < 0.05$) quando comparado ao grupo controle contendo eritrócitos e NaCl 0,9%, em seus respectivos tempos.

4.2.3. Concentração de malondialdeído

O mel de *S. depilis* foi avaliado quanto à sua eficiência na inibição da peroxidação lipídica, induzida por AAPH, na membrana das hemácias, através da dosagem da concentração de malondialdeído (MDA), um produto da peroxidação lipídica que serve como parâmetro para avaliação da ação de espécies reativas no organismo. O mel foi capaz de reduzir 60 e 56% dos níveis de MDA nas concentrações de 50 e 75 mg/mL, respectivamente, durante 240 min (Fig. 4). O ácido ascórbico reduziu aproximadamente 64 e 89,9 % dos níveis de MDA, nas concentrações

de 50 e 75 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, durante 180 min, perdendo atividade ao longo do experimento (Fig. 4).

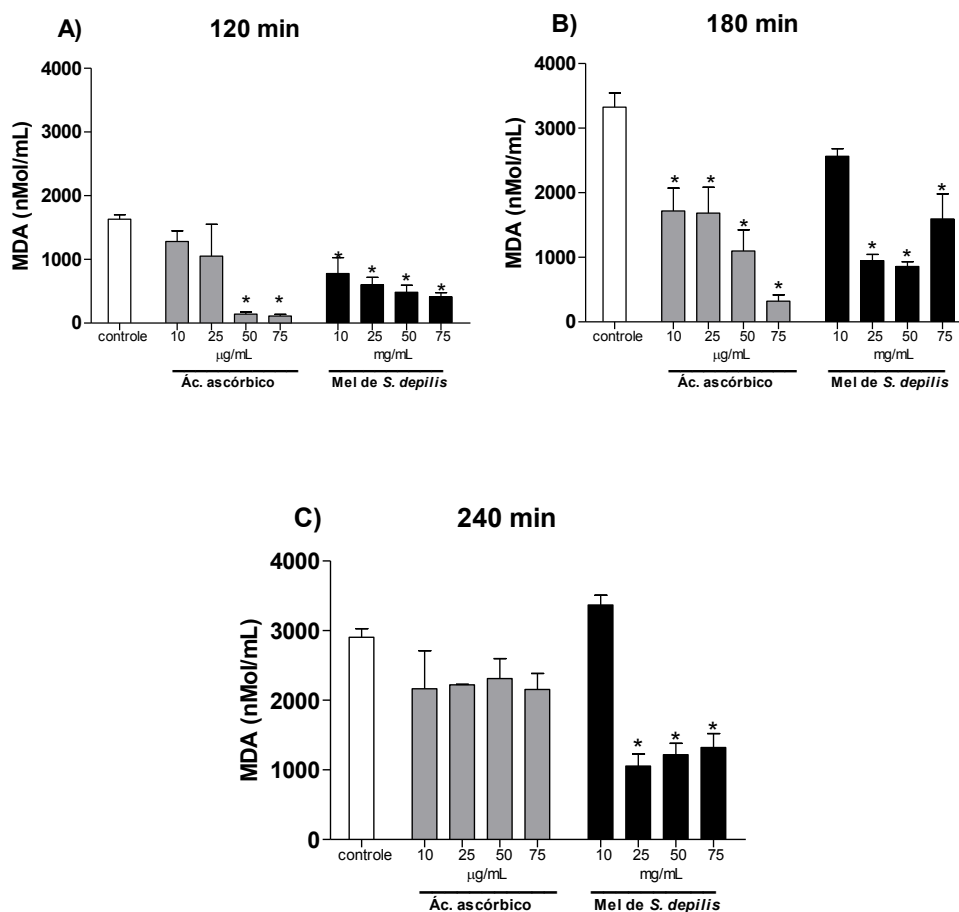


Fig. 4. Concentração de MDA encontrada em grupos de eritrócitos induzidos à peroxidação lipídica por AAPH e tratados com diferentes concentrações de ácido ascórbico (antioxidante padrão) e mel de *S. depilis*, após (A) 120, (B) 180, e (C) 240 min de incubação. Os valores foram expressos de acordo com a média de três experimentos independentes em duplicata. *Significância estatística dos resultados ($p < 0.05$) quando comparado os grupos tratados com os eritrócitos que receberam apenas AAPH (controle) em seus respectivos tempos.

5. DISCUSSÃO

O mel é um alimento complexo, de alto valor energético, e que possui diversas atividades biológicas, entre elas antioxidante e antimicrobiana (SILVA et al., 2006). A grande maioria dos estudos, bem como o consumo e comercialização, detém-se ao mel de *Apis mellifera*, porém em zonas rurais e comunidades indígenas é comum o uso de mel e outros produtos de abelhas sem

ferrão nativas do local. Entretanto, estes produtos são pouco estudados e não possuem normas para padrão de qualidade (SOUZA et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2013).

Este estudo descreve pela primeira vez as propriedades antioxidantes do mel da abelha sem ferrão *S. depilis*. Apesar do conteúdo fenólico constatado ser menor que o constatado na literatura (BLASA et al., 2007; LIRA et al., 2014; SPILIOTI et al., 2014; WABAIDUR et al., 2015), o mel apresentou atividade antioxidante em testes *in vitro*.

Em ensaio de captura direta de radical livre, o mel de *S. depilis* demonstrou ser eficiente em capturar o radical DPPH. Resultado similar foi obtido por Silva et al. (2014), em estudo realizado com o mel de abelha sem ferrão *Melipona subnitida*, sob a forma natural e desumidificada, provenientes do nordeste brasileiro.

O mel de *S. depilis* foi eficiente em proteger hemácias humanas contra a peroxidação lipídica da membrana induzida pelo agente oxidativo AAPH, não tendo grande perda de eficiência ao longo do tempo, o que indica que seu efeito protetor não é apenas a curto prazo. Blasa et al. (2007), analisaram a atividade antioxidante da fração aquosa e etérea de méis multiflorais da Itália, constatando que ambas as fases tem atividade antioxidante, porém a fase aquosa é mais eficaz em inibir a ação dos radicais peroxil gerados pelo AAPH, e a fase etérea é mais eficiente na proteção contra a hemólise oxidativa e a peroxidação lipídica.

Os compostos fenólicos são apontados como principais responsáveis pela atividade antioxidante do mel, porém, enzimas, minerais, vitaminas e várias substâncias orgânicas presentes no mel também atuam como agentes antioxidantes e em outras atividades biológicas como a antimicrobiana (SILVA, 2006; OLIVEIRA et al., 2012; LIRA et al. 2014). Os méis de meliponíneos se destacam pelo conteúdo de proteínas, o que se deve principalmente pela quantidade de enzimas introduzidas pelas próprias abelhas (LIRA et al., 2014), sendo este parâmetro uma das prováveis explicações para a atividade antioxidante encontrada no mel deste estudo.

Uma vez que o mel de *S. depilis* possui compostos fenólicos, estes, juntamente com outros componentes, podem ser uma das causas da atividade antioxidante encontrada neste estudo, podendo vir a ser uma alternativa no tratamento e na prevenção de doenças humanas crônicas não transmissíveis desencadeadas pelo estresse oxidativo, entre elas a aterosclerose, diabetes, obesidade, hipertensão, doenças renais, transtornos neurodegenerativos, além do envelhecimento precoce (ROBERTS E SINDHU, 2009). O mel é um alimento saudável e que

pode proporcionar uma melhor qualidade de vida a quem o agregar em sua alimentação. Além disto, tais dados podem estimular a prática da meliponicultura e a preservação das espécies de abelhas sem ferrão.

6. CONCLUSÃO

Neste contexto, conclui-se que o mel de *Scaptotrigona depilis*, proveniente da região sul do Cerrado, apresenta compostos fenólicos e flavonoides e estes, juntamente com outras substâncias, podem estar relacionados a atividade antioxidante do mesmo. O mel foi capaz de inibir os radicais livres DPPH e a peroxidação lipídica induzida pelo agente oxidante AAPH em eritrócitos humanos. Ainda são necessários outros estudos para se conhecer melhor a composição e as atividades biológicas do mel de *S. depilis* desta região.

POTENTIAL OF HONEY FROM STINGLESS BEES *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) FROM SOUTH REGION OF CERRADO

ABSTRACT

Honey is a sugary, viscous and aromatic food resulting from physical and chemical processing of flower nectar collected by bees. Honey is the product of the hive more exploited and marketed, primarily produced by species *Apis mellifera*. However, grows every day the interest in honey from stingless bees, also called meliponineos. The composition and biological activities of the honeys of these bees are still little studied and known by science, although these are used for a long time in rural and indigenous communities in food and medicinal purposes. Thus, the aim of this study was to quantify the phenolic compounds and evaluating the antioxidant activity of honey from stingless bee *Scaptotrigona depilis* finds in the southern region of the Cerrado. The phenolic compounds present in honey were quantified by colorimetric methods. The antioxidant activity was measured by capturing the free radical DPPH and inhibition of lipid peroxidation induced by AAPH oxidizing agent. It was verified the presence of phenolic compounds in honey of *S. depilis* and also antioxidant activity in *in vitro* assays, being able to DPPH free radical scavenging and inhibit lipid peroxidation in human erythrocytes. However, other studies need to be conducted to assess other biological activities of meliponineos honey, thereby encouraging the consumption of these honeys, the practice of meliponiculture and stingless bees species preservation.

KEY-WORDS: Meliponineos, canudo bee, oxidative stress, preservation, lipid peroxidation.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, L. M. S.; CAMARGO, A. J. A.; SOUSA, E. S. Fauna de insetos do Cerrado. **Agencia de informação Embrapa – Bioma Cerrado**, Brasília, 2007. Disponível em: <
http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/arvore/AG01_77_911200585235.html>
 Acesso em: 13 de abr. 2015.
- AGUIAR, L. M. S.; MACHADO, R. B.; MARINHO-FILHO, J. A diversidade biológica do Cerrado. In: Aguiar, L. M. S. & Camargo, A. J. A. **Cerrado: ecologia e caracterização**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 2004. Capítulo 1.
- AKATSU, I. P. **Resinas vegetais coletadas por Scaptotrigona (Hymenoptera, Apidae): composição química e atividade antimicrobiana**. 2009. 115 p. Tese de doutorado em Entomologia. FFCLRP da Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, 2009.
- ANTUNES, M. V.; LAZZARETTI, C.; GAMARO, G. D.; LINDEN, R. Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, abr./jun., 2008.
- ANDRADE J. R., D. R., SOUZA, R. B., SANTOS, S. A., ANDRADE, D. R. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.31, n. 1, p.60-68, 2005.
- ARAÚJO, A. S. R. **Influencia do hipotireoidismo no dano oxidativo e nas defesas antioxidantes**. 2002. Dissertação de mestrado. Institutos de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, 2002.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, jul./ago. 2010.
- BIANCHI M. L. P.; ANTUNES L. M. G.; Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n.12, p.123-30, 1999.
- BLASA, M.; CANDIRACCI, M.; ACCORSI, A.; PIACENTINI, M. P.; PIATTI, E. Honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red blood cells. **Food Chemistry**, Urbino, v. 104, p. 1635–1640, mar. 2007.
- BOBANY, D. M.; MARIANA DE ALCANTARA PEREIRA PIMENTEL, M. A. P.; MARTINS, R. R. C.; NETTO, B. A. S.; TOLLA, M. S. Atividade antimicrobiana do mel de abelhas jataí (*Tetragonisca angustula*) em cultivo de microrganismos do conduto auditivo de caninos domésticos *Canis familiaris*). **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 441-446, abr./jun. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 23 out. 2000. Seção 1, p.16-17.

CAMPOS, J. F.; SANTOS, U. P.; MACORINI, L. F. B.; MELO, A. M. M. F.; BALESTIERI, J. B. P.; PAREDES-GAMERO, E. J.; CARDOSO, C. A. L.; SOUZA, K. P.; SANTOS, E. L. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of própolis from *Melipona orbignyi* (Hymenoptera, Apidae). **Food and Chemical Toxicology**, V. 65, P. 374–380, jan. 2014.

CLARKSON, P.M.; THOMPSON, H. S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 72, n. 2, p. 637-646, ago. 2000.

FERREIRA, A. L. A., MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**. Botucatu, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, M. G.; MANENTE-BALESTIERI, F. C. D.; BALESTIERI, J. B. P. Pólen coletado por *Scaptotrigona depilis* (Moure) (Hymenoptera, Meliponini), na região de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de entomologia**, v. 54, n. 2, São Paulo, abr./jun 2010.

GIADA, M. L. R., FILHO, J. M. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Biologia e Saúde**, v. 12, n.4, p. 7-15, Ponta Grossa, dez. 2006.

GHELDOLF, N.; WANG, X.; ENGESETH, N. J. Identification and quantification of antioxidants components of honeys from various floral sources. **The Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 10, p. 5870-5877, 2002.

GUIMARÃES, N. P. **Apicultura, a Ciência da Longa Vida**. Editora Itatiaia, v. 13, p. 155, Belo Horizonte, 1989.

GUPTA, D., GUPTA, R.K., 2011. Bioprotective properties of Dragon's blood resin: in vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, p. 1–9, 2011.

HUANG H. Y.; APPEL L. J.; CROFT K. D.; MILLER E. R.; MORI T. A.; PUDDEY I. B. Effects of vitamin C and vitamin E on in vivo lipid peroxidation: results of randomized controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n. 3, p. 549-55, 2002.

LIANDA, R. L. P. **Perfil de substâncias fenólicas de méis brasileiros por cromatografia líquida de alta eficiência e avaliação do potencial antioxidante**. 2009, 185 p. Tese de Doutorado. Instituto de ciências exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, Seropédica, 2009.

LIBERIO, S. A.; PEREIRA, A. L. A.; DUTRA, R. P., REIS, A. S.; ARAÚJO, M. J. A. M., MATTAR, N. S., SILVA, L. A., RIBEIRO, M. N., NASCIMENTO, F. R., GUERRA, R. N., MONTEIRO-NETO, V. Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory

effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, p. 1–10, 2011.

LIMA, É. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, set./dez., 2001.

LIRA, A. F.; SOUSA, J. P. L. M.; LORENZON, M. C.; VIANNA, C. A. F. J.; CASTRO, R. N. Estudo comparativo do mel de *Apis mellifera* com méis de meliponídeos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.3, p.169-178, 2014.

MAGDER, S. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? **Critical Care**, v. 10, p. 208, 2006.

MARQUES, A. M. **Apicultura em Marcha**. 1. ed. Tubarão: Gráfica Editora Dehon Ltda, 1989.

MARTELLI, F.; NUNES, F. M. F. Radicais livres: em busca do equilíbrio. **Ciência e Cultura**, v. 66, n 3, São Paulo, Set. 2014.

MEDA, A.; LAMIEN, C. E.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOULMA, O. G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry** v. 91, p. 571-577, 2005

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Bioma Cerrado. Disponível em:
<<http://www.praticadapesquisa.com.br/2011/10/como-apresento-citacoes-de-conteudos.html>>
Acesso em: 21 maio 2015.

MIORIN, P. L.; LEVY JUNIOR, N. C.; CUSTODIO, A. R.; BRETZ, W. A.; MARCUCCI, M. C. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v.95, p. 913-920, 2003.

NASSER, A. L. M.; DOURADO, G. K.; MANJATE, D. A.; CARLOS, I. Z.; CESAR, T. B. Avaliação do estresse oxidativo no sangue de consumidores habituais de suco de laranja. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 2, p. 275-279, 2011.

OLIVEIRA, K. A. M.; RIBEIRO L. S.; OLIVEIRA, G. V. Caracterização Microbiológica, Físico-Química e Microscópica de Mel de Abelhas Canudo (*Scaptotrigona Depilis*) e Jataí (*Tetragonisca Angustula*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.3, p.239-248, 2013.

OLIVEIRA, P. S.; MÜLLER, R. C. S.; DANTAS, K. G. F.; ALVES, C. N. Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis mellifera* (Apidae, Apini) da Amazônia. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1728-1732, 2012.

PEDRO, S. R. M. The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, Ribeirão Preto, v. 61, n. 4, p. 348-354, Dez. 2014.

PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; CAMARGO, R. C. R.; VILELA, S. L. O. Produção de mel. **Embrapa Meio-Norte**, Sistema de Produção 3, Teresina, Jul. 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/index.htm>> Acesso em 16 de jun. 2014.

PEREIRA, S. S. **Associação de estresse oxidativo e obesidade induzida por dieta na secreção de adipocinas**. 2010. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciência de alimentos). Faculdade de Farmácia da UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, 2010.

RACOWSKI, I.; SILVAS F. P. C.; TAKUSHI D. T. T.; DA SILVA, D. W. G; MIRANDA, P. S. Ação Antimicrobiana do Mel em Leite Fermentado. **Revista Analytica**, n. 30, ago/set. 2007.

RENZ, S. V. **Oxidação e oxidantes**. Seminário da disciplina de Bioquímica do Tecido Animal, Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS, 2003. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/oxid_antiox.pdf> Acesso em: 30 de out. 2015.

RIBEIRO, L. P. M. **Avaliação da qualidade do mel: atividade antioxidante, análise polínica e percepção do consumido**. 2013. 88 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências da UP (FCUP), Universidade do Porto – UP, Porto, 2013.

ROBERTS, C. K.; SINDHU, K. K. Oxidative stress and metabolic syndrome. **Life Sciences**, v. 84, n. 21–22, p. 705–712, maio 2009.

RODRIGO, R.; GUICHARD, C.; CHARLES, R. Clinical pharmacology and therapeutic use of antioxidantvitamins. **Fundamental & Clinical Pharmacology**. v. 21, n. 2, p. 111-127, abr. 2007.

SPILIOTI, E.; JAAKKOLA, M; TOLONEN, T.; LIPPONEN, M.; VIRTANEN, V.; Chinou, I.; Kassi1, E.; Karabournioti1, S.; Moutsatsou, P. Phenolic Acid Composition, Antiatherogenic and Anticancer Potential of Honeys Derived from Various Regions in Greece. **Plos One**, v. 9, n. 4, ed. 94860, abr. 2014.

SILVA, R. A.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C. Composição e Propriedades Terapêuticas do Mel de Abelha. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 1, p. 113-120, jan./mar. 2006.

SILVA, A. M.; SILVA, J. S. V.; FERRARI, D. L.; LAMPARELLI, R. A. C. Vegetação natural e área antrópica em Mato Grosso do Sul até o ano de 2002. In: 3º Simpósio de Geotecnologias no Pantanal, Cáceres, **Anais Embrapa Informática Agropecuária/INPE**, p.391-400, out. 2010.

SILVA, C. T.; JASIULIONIS, M. G. Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer. **Ciencia e Cultura**, v. 66, n. 1, São Paulo, 2014.

SILVA, M. C. P.; AROUCHA, E. M. M.; MOURA, A. A. C.; FERREIRA, R. M. A.; PAIVA, C.A.; ALMEIDA, J.G.L. Avaliação sensorial e atividade antioxidante do mel desumidificado de *Melípona subnitida*. 54º Congresso Brasileiro de Química; Natal; nov. 2014.

STEGHENS, J. P.; KAPPEL, A. L. V.; DENIS, I.; COLLOMBEL, C. Diaminonaphtalene, a new highly specific reagent for HPLC-UV measurement of total and free malondialdehyde in human plasma or serum. **Free Radical Biology and Medicine**, v.31, n.2, p.242-249, 2001.

SILVA, R. A.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C. Composição e Propriedades Terapêuticas do Mel de Abelha. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 1, p. 113-120, jan./mar. 2006.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p.152–178, 1999.

SOSA, V.; MOLINÉ, T.; SOMOZA R.; PACIUCCI, R.; KONDOH, H.; LLEONART, M. E. Oxidative stress and cancer: an overview. **Ageing Research Reviews**, v. 12, n. 1, p. 376-90, jan. 2013.

SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L.C. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1623-1624, Santa Maria, set./out. 2004.

VENTURIERI, G. C. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. Embrapa Amazônia Oriental. 36 p. Belém, 2004.

WABAIDUR, S. M.; AHMED, Y. B.; ALOTHMAN, Z. A.; OBBED, M. S.; AL-HARBI, N. M.; AL-TURKI, T. M. Ultra high performance liquid chromatography with mass spectrometry method for the simultaneous determination of phenolic constituents in honey from various floral sources using multiwalled carbon nanotubes as extraction sorbents. **Journal of Separation Science**, v. 38, n. 15, p. 2597–2606, ago. 2015.

WOISKY, R. G; SALATINO, A. Analysis os propolis: some parameters ond prodecore for chemical fuality control. **Journal Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.