



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

Área de Concentração: Ciência de Alimentos

**CARACTERIZAÇÃO DA GEOPRÓPOLIS DE ABELHA SEM FERRÃO DA BAHIA E
APLICAÇÃO DA QUIMIOMETRIA NA AVALIAÇÃO DE SEUS CONSTITUINTES
BIOATIVOS**

Autor: Thynara de Freitas Oliveira

Orientador: Prof. Dsc. Leandro Soares Santos

ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
Março de 2022

THINARA DE FREITAS OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO DA GEOPRÓPOLIS DE ABELHA SEM FERRÃO DA BAHIA E
APLICAÇÃO DA QUIMIOMETRIA NA AVALIAÇÃO DE SEUS CONSTITUINTES
BIOATIVOS**

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. DSc. Leandro Soares Santos.

Coorientadores: Prof^ª. D^ªSc. Cristiane Martins Veloso.

Prof^ª. D^ªSc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão.

ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
Março de 2022

638.1
O52c

Oliveira, Thinara de Freitas

Caracterização da geoprópolis de abelha sem ferrão da Bahia e aplicação da quimiometria na avaliação de seus constituintes bioativos. / Thinara de Freitas Oliveira. - Itapetinga: UESB, 2022.

81f.

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Leandro Soares Santos e coorientação da Profª. D. Sc. Cristiane Martins Veloso e Profª. D. Sc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão.

1. Abelha sem ferrão – Geoprópolis - Padrão de qualidade. 2. Geoprópolis - Composição química - Atividade biológica. 3. Quimiometria - Análise multivariada. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. II. Santos, Leandro Soares. III. Veloso, Cristiane Martins. IV. Ferrão, Sibelli Passini Barbosa. V. Título.

CDD (21): 638.1

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Geoprópolis – Potencial bioativo
2. Quimiometria – Geoprópolis - Potencial bioativo
3. Análise multivariada – Análises Quimiométricas

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: CARACTERIZAÇÃO DA GEOPRÓPOLIS DE ABELHA SEM FERRÃO DA BAHIA E APLICAÇÃO DA QUIMIOMETRIA NA AVALIAÇÃO DE SEUS CONSTITUINTES BIOATIVOS.

Autor (a): THINARA DE FREITAS OLIVEIRA

Orientador (a): Prof. Dr. Leandro Soares Santos

Coorientador (a): Prof.^a Dr.^a Cristiane Martins Veloso

Prof.^a Dr.^a Sibelli Passini Barbosa Ferrão

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de *MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS*, pela Banca Examinadora.



Prof.^a Dr.^a Silmara Almeida de Carvalho
UESB



Prof. Dr. Danilo Junqueira Leão
UESB



Prof. Dr. Leandro Soares Santos
Orientador - UESB
Presidente da Banca

Itapetinga-BA, 07 de março de 2022.

“Não há transição que não implique um ponto de partida, um processo e um ponto de chegada. Todo amanhã se cria num ontem, através de um hoje. De modo que o nosso futuro se baseia no passado e se corporifica no presente. Temos de saber o que fomos e o que somos, para sabermos o que seremos.”

Paulo Freire

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me proteger e dar força durante toda essa trajetória, por me amar tanto e me abençoar nos pequenos detalhes e, principalmente, por cumprir mais uma promessa em minha vida.

Aos meus pais, Marisene e Nelson, por todo apoio e por terem me dado a vida. Em especial, agradeço minha mãezinha que tanto me incentiva e acalma nos momentos de aflição, me lembrando o quanto sou forte e capaz. A senhora é o meu maior exemplo de força, superação e determinação, me ensinando diariamente quão grande e valiosa é a vida. Eu te amo incondicionalmente!

Aos meus irmãos Thamires e Wallace pelas orações, apoio, preocupação, incentivo, por todos os momentos compartilhados e por terem sido tão presentes durante esse ciclo. Vocês fazem parte dessa conquista! Amo vocês!

À amiga Pâmela que, mesmo distante fisicamente, também se fez presente durante todo esse ciclo, me acolhendo, acalmando e reforçando o quanto sou capaz. Você me ensina diariamente o que é uma amizade verdadeira, baseada no respeito, carinho e cuidado. Te amo, amiga!

À amiga Acsa que me acolheu desde o primeiro dia que cheguei em Itapetinga, me acompanhando não só nas atividades do mestrado. Obrigada por ter compartilhado tanto conhecimento técnico, pelo companheirismo, preocupação, suporte, atenção e por ter sido tão presente em cada dia desse ciclo. Sou grata a Deus por nosso encontro. Te amo, amiga!

Ao meu orientador Leandro Soares por todo conhecimento compartilhado, momentos de aprendizado, conversas, conselhos e, principalmente, paciência. Obrigada por ter sido tão presente diariamente, por acreditar em mim, pela contribuição na minha evolução profissional e pessoal.

Agradeço toda a equipe do laboratório 9: Acsa, Amanda, Ana Priscila, Jéssica, Keko, Roberta, Renata e Vanessa pela troca diária, por todo apoio e carinho. Em especial, agradeço Acsa, Amanda e Roberta que sempre me auxiliaram e acalmaram nos momentos de aflição, compartilhando seu precioso conhecimento, sanando minhas inúmeras dúvidas, pela disposição em me ajudar, pelos conselhos e, principalmente, sempre me mostrando o quanto eu sou capaz.

Às pessoas maravilhosas que tive a honra de conhecer e conviver durante o mestrado, em especial Sthefhany, Jô, Lucas Sousa, Izabelle, Camila, Jana, Mari. Vocês sempre estarão no meu coração!

À todos que não foram citados, mas contribuíram de alguma maneira.

Agradeço todos os professores do PPGEAL com quem tive a oportunidade de conviver durante esse período. Vocês são grandes inspirações!

Aos integrantes da banca examinadora pelas contribuições e disponibilidade.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE ABREVIACÕES.....	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
I REFERENCIAL TEÓRICO	1
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Abelha sem Ferrão.....	3
2.2. Própolis	6
2.3. Geoprópolis.....	7
2.3.1. Composição Química e atividade biológica da Geoprópolis.....	8
2.4. Espectroscopia por Infravermelho.....	10
2.5. Quimiometria.....	13
II OBJETIVOS GERAIS	16
1. Objetivo Geral.....	16
2. Objetivos Específicos.....	16
III MATERIAL E MÉTODOS	17
1 Material.....	17
2 Caracterização das amostras.....	20
2.1. Obtenção do extrato	20
2.2. Constituintes Fenólicos Totais – CFT.....	20
2.3. Constituintes Flavonoides Totais - FT.....	20
2.4. Determinação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> pelo método DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil)	21
2.5. Determinação da capacidade antioxidante <i>in vitro</i> pelo método da co-oxidação do sistema β -caroteno: ácido linoleico – BCAL.....	21

2.6. Determinação da capacidade antioxidante <i>in vitro</i> pelo método de redução do ferro - Poder Redutor - PR.....	22
2.7. Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa - CLAE.....	23
2.8. Espectroscopia de infravermelho médio – MIR.....	23
3 Análises Quimiométricas	24
3.1. Análise de Componentes Principais - ACP	24
3.2. Análise de Agrupamento - AG.....	24
3.3. Regressão por Mínimos Quadrados Parciais - RMQP.....	25
3.3.1 Pré processamento dos dados espectroscópicos	26
IV RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
1 Constituintes fenólicos e flavonoides totais e capacidade antioxidante.....	27
2 Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE)	32
3 Espectroscopia de Infravermelho Médio – MIR.....	38
4 Análises Quimiométricas	40
4.1. Análise de Componentes Principais	40
4.2. Análise de Agrupamento	46
4.3. Regressão por Mínimos Quadrados Parciais.....	49
V CONCLUSÕES.....	56
VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos bioativos e seus respectivos números de onda na Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier.	12
Tabela 2 - Espécie de abelha, local, coordenada geográfica, estação, mês e ano de coleta das amostras analisadas.	18
Tabela 3 - Teores de constituintes fenólicos totais, flavonoides totais e potencial antioxidante de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.	28
Tabela 4 - Equações da reta, linearidade, faixa de concentração e comprimento de onda dos padrões analisados.	33
Tabela 5 - Compostos fenólicos individuais (mg/100g) das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia quantificados por CLAE.	34
Tabela 6 - Parâmetros de ajustes dos modelos preditivos de RMQP.	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Abelhas sem ferrão brasileiras. (A) <i>Nannotrigona testaceicornis</i> ; (B) <i>Tetragonisca angustula</i> ; (C) <i>Scaptotrigona sp.</i> ; (D) <i>Melipona rufiventris</i> ; (E) <i>Melipona quadrifasciata</i> . Fonte: Lavinias et al., 2019.	4
Figura 2 - Geoprópolis da Uruçu Nordestina (<i>Melipona scutellaris</i>). Fonte: Miotelo et al. (2021). .	5
Figura 3 - Mapa de classificação climática das regiões do estado da Bahia. Fonte: Alvares, 2013...	8
Figura 4 - Gráficos de PCA de escores (A) e carregamentos (B) para dados HS-GC/MS de amostras de própolis verde da primavera (●), verão (■) e outono (⊠). Fonte: Nunes e Guerreiro (2012).....	14
Figura 5 - Gráfico de PCA demonstrando a dispersão do perfil espectral UV-Vis de amostras de própolis coletadas em 2014 (verão, primavera, outono e inverno) no sul do Brasil . (B) Amplificação das amostras sobrepostas em PCA. Fonte: Tomazzoli et al. (2015).	15
Figura 6 - Espectros de absorbâncias no MIR das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.	38
Figura 7 - Principais bandas que apresentaram alterações nas intensidades dos espectros	39
Figura 8 - Dispersão dos Componentes Principais 1 e 2 das variáveis (A) e das amostras (B) de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados de atividade antioxidante e constituintes fenólicos.	41
Figura 9 - Dispersão dos Componentes Principais 1 e 2 das variáveis (A) e das amostras (B) de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados quantificados por CLAE.	43
Figura 10 - Dispersão dos Componentes Principais 1 e 2 das variáveis (A) e das amostras (B) de geoprópolis do estado da Bahia de acordo com os compostos ácido gálico, clorogênico e catequina quantificados por CLAE.....	44
Figura 11 - Dispersão dos Componentes Principais 1 e 2 das variáveis (A) e das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados quantificados por MIR para as amostras brutas (B).....	45
Figura 12 - Dendograma de agrupamento das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados de capacidade antioxidante.	46
Figura 13 - Dendograma de agrupamento das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados de CLAE.	47
Figura 14 - Dendograma de agrupamento das amostras brutas de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados observados por MIR.....	48

Figura 15 - Coeficientes de regressão em função do comprimento de onda do modelo RMQP construído para prever os constituintes fenólicos totais em amostras geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.	51
Figura 16 - Coeficientes de regressão em função do comprimento de onda do modelo RMQP construído para prever os constituintes flavonoides totais em amostras geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.	51
Figura 17 - Coeficientes de regressão em função do comprimento de onda do modelo RMQP construído para prever o CE ₅₀ do DPPH de totais em amostras geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.	52
Figura 18 - Coeficientes de regressão em função do comprimento de onda do modelo RMQP construído para prever o percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico em amostras geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.	53
Figura 19 - Coeficientes de regressão em função do comprimento de onda do modelo RMQP construído para prever o CE ₅₀ do poder redutor em amostras geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.	54

LISTA DE ABREVIACÕES

ACP – análise de componentes principais

AG – análise de agrupamento

BCAL - co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

CE₅₀ - concentração de efeito para inibir 50% do radical testado

CFT – constituintes fenólicos totais

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

CP – componente principal

DPPH - 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil

EAG – ácido gálico

ESI-MS – espectrometria de massas com ionização por eletrospray

FIR – espectroscopia no infravermelho distante

FT – flavonoides totais

FTIR – espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier

FTIR-ATR – espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier e reflectância total atenuada

MIR - espectroscopia no infravermelho médio

MSC – correção de espalhamento multiplicativo

NIR - espectroscopia no infravermelho próximo

RER – erro quadrático médio

RMQP – regressão por mínimos quadrados parciais

RMSE – raiz quadrada do erro médio

RPD – relação entre desempenho e desvio

SNV – variação normal padrão

RESUMO

OLIVEIRA, T. F. **Caracterização da geoprópolis de abelha sem ferrão da Bahia e aplicação da quimiometria na avaliação de seus constituintes bioativos.** Itapetinga-BA: UESB, 81 p. 2022. Dissertação. (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos).*

A geoprópolis é produzida pelas abelhas sem ferrão e consiste numa mistura de resinas orgânicas, cera, solo e/ou argila. Informações sobre a composição química e a atividade biológica da geoprópolis são de grande importância para identificar o padrão de qualidade desse produto natural. Esse estudo teve como objetivo caracterizar a geoprópolis de abelha sem ferrão de cinco diferentes espécies produzidas em três regiões da Bahia, considerando o seu potencial bioativo através de quimiometria. Foram analisadas 35 amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão de diferentes espécies e regiões do estado da Bahia, coletadas de colmeias e/ou produtores e meses de anos diferentes, sendo de março de 2020 a novembro de 2021, garantindo assim a heterogeneidade das amostras. O extrato de geoprópolis foi preparado com o solvente etanol 70%. Determinaram-se os constituintes fenólicos totais (CFT) e flavonoides totais (FT), atividade antioxidante por DPPH, poder redutor (PR) e proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico (BCAL), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e análise não convencional de espectroscopia de infravermelho médio (MIR). Os resultados das respectivas análises foram discriminados por Análise de Agrupamento (AG), Análise de Componentes Principais (ACP) e modelos matemáticos foram ajustados por Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (RMQP) para prever o potencial antioxidante utilizando dados do MIR. As análises convencionais indicaram heterogeneidade entre as amostras com teor médio de CFT de 8,98 (mg de ácido gálico. g^{-1} de amostra) e FT de 4,10 (mg de catequina. g^{-1} de amostra). Expressaram potencial antioxidante de ação primária (CE_{50} do DPPH de 2,47 mg. mL^{-1}) e de ação secundária (CE_{50} do PR de 0,78 mg. mL^{-1} e % proteção BCAL de 32,18), possibilitando a diferenciação qualitativa de amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão com qualidade antioxidante superior ou inferior. Na cromatografia líquida de alta eficiência foi possível detectar onze constituintes fenólicos individuais, sendo que a Biochanina A, Formononetina e Daidzeína nunca foram relatados na literatura para a matriz de geoprópolis. As duas análises qualitativas demonstraram a formação e separação de grupos de acordo com a atividade antioxidante e conteúdo fenólico total, porém a ACP evidenciou ainda mais a separação desses grupos. A análise quantitativa RMQP demonstrou resultados razoáveis e de utilidade prática moderada e demonstraram a possibilidade de calibrar dados para prever análises indicadoras de qualidade de geoprópolis de abelha sem ferrão de forma simples e rápida, utilizando o MIR associado a modelos de calibração multivariada, tornando-se útil devido ser uma análise rápida, precisa e que não demandam reagentes sendo, portanto, uma alternativa de substituição de análises onerosas.

Palavras-chave: Análise multivariada; Capacidade antioxidante; Meliponíneo.

* Orientador: D. Sc. UESB Leandro Soares Santos; Co-orientadores: D^a. Sc. UESB Cristiane Martins Veloso; D^a. Sc. UESB Sibelli Passini Barbosa Ferrão.

ABSTRACT

OLIVEIRA, T. F. **Characterization of stingless bee geopropolis from Bahia and application of chemometrics in the evaluation of its bioactive constituents.** Itapetinga-BA: UESB, 81 p. 2022. Dissertation. (Master in Engineering and Food Sciences, Concentration in the Food Science area).*

Geopropolis is produced by stingless bees and consists of a mixture of organic resins, wax, soil and/or clay. Information on the chemical composition and biological activity of geopropolis is of great importance to identify the quality standard of this natural product. This study aimed to characterize the stingless bee geopropolis of five different species produced in three regions of Bahia, considering its bioactive potential through chemometrics. Thirty-five samples of stingless bee geopropolis from different species and regions of the state of Bahia were analyzed, collected from hives and/or producers and months of different years, being from March 2020 to November 2021, thus ensuring the heterogeneity of the samples. The geopropolis extract was prepared with the solvent 70% ethanol. Total phenolic (CFT) and total flavonoid (FT) constituents, antioxidant activity by DPPH, reducing power (PR) and protection of the β -carotene/linoleic acid (BCAL) system, high performance liquid chromatography (HPLC) and unconventional mid-infrared spectroscopy (MIR) analysis were determined. The results of the respective analyses were discriminated by Cluster Analysis (GA), Principal Component Analysis (PCA) and mathematical models were fitted by Partial Least Squares Regression (PMSR) to predict antioxidant potential using MIR data. The conventional analyses indicated heterogeneity among the samples with mean CFT content of 8.98 (mg gallic acid. g^{-1} sample) and FT of 4.10 (mg catechin. g^{-1} sample). They expressed antioxidant potential of primary action (DPPH CE_{50} of 2.47 mg. mL^{-1}) and secondary action (PR CE_{50} of 0.78 mg. mL^{-1} and % BCAL protection of 32.18), enabling qualitative differentiation of stingless bee geopropolis samples with higher or lower antioxidant quality. On high-performance liquid chromatography it was possible to detect eleven individual phenolic constituents, of which Biochanin A, Formononetin and Daidzein have never been reported in the literature for the geopropolis matrix. The two qualitative analyses demonstrated the formation and separation of groups according to antioxidant activity and total phenolic content, but the PCA further evidenced the separation of these groups. The quantitative RMQP analysis showed reasonable results of moderate practical utility and demonstrated the possibility of calibrating data to predict quality indicator analyses of stingless bee geoproops in a simple and fast way, using MIR associated with multivariate calibration models, making it useful because it is a fast and accurate analysis that does not require reagents and is therefore an alternative replacement for costly analyses.

Keywords: Multivariate Analysis; Antioxic capacity; Meliponins.

* Advisor: D. Sc. UESB Leandro Soares Santos; Co-advisors: D^a. Sc. UESB Cristiane Martins Veloso; D^a. Sc. UESB Sibelli Passini Barbosa Ferrão.

I REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os Meliponíneos, também conhecidos como abelhas sem ferrão, são o maior grupo de abelhas do mundo, com mais de 500 espécies descritas por todo planeta (HRNCIR et al., 2016). São insetos de grande diversidade e ampla distribuição geográfica, excelentes agentes polinizadores de muitas espécies de plantas nativas de diferentes biomas e apresentam produtos e subprodutos muito valorizados economicamente, tais como o mel, pólen, própolis e geoprópolis, sendo esses os principais atrativos para a sua criação racional e manejo (ABDULLAH et al., 2019).

A *Apis mellifera* é responsável por produzir própolis, enquanto os Meliponíneos (abelha sem ferrão) é responsável pela produção da geoprópolis. A abelha sem ferrão coleta o material resinoso das plantas e traz para sua colméia, misturando com cera e argila ou terra, resultando um material resinoso, menos maleável e que difere das amostras de própolis devido o conteúdo mineral e do solo, sendo esse o principal diferencial da própolis produzida pelas *Apis mellifera* (FREITAS et al., 2008; BARTH & LUZ, 2003).

Informações sobre a composição química e a atividade biológica da geoprópolis são muito importantes, pois identificam e reforçam o padrão de qualidade desse produto natural que tem ganhado destaque em todo o mundo, principalmente devido suas atividades biológicas, incluindo funções anti-inflamatória (SANTOS et al., 2017; GUZMÁN- GUTIÉRREZ et al., 2018), antioxidante (FERREIRA et al., 2018), anticâncer (BARTOLOMEU et al., 2016) antimicrobiana e antiviral (LAVINAS et al., 2019; CARDOZO et al., 2015; MANOLOVA et al., 1985). Bankova (2005) relata que os compostos fenólicos (flavonoides, ácidos aromáticos e seus ésteres) são os principais metabólitos secundários relacionados as atividades biológicas da geoprópolis.

Mais de cinquenta compostos presentes na geoprópolis brasileira já foram identificados, reforçando a diversidade em termos de composição bioativa. A geoprópolis é complexa, pois varia muito de acordo com a flora, clima, estação do ano e a região geográfica onde é coletada, sendo composta por polifenóis, flavonoides e ésteres do ácido cafeico. A flora do estado da Bahia é rica em diversidade de espécies de plantas provenientes dos biomas Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica, sendo considerado o estado mais plural da Federação, o que contribui para produção de geoprópolis com diferentes composições bioativas e com grande potencial químico (SFORCIN et al., 2017; ARAÚJO, 2013; IBGE, 2022).

Alguns estudos têm utilizado essas características individuais para promover a indicação de qualidade da geoprópolis, associando dados de composição fenólica, potencial antioxidante e técnicas de espectroscopia através de métodos quimiométricos de classificação e quantificação (TURCO et

al., 2020; LAVINAS et al., 2019). Assim, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a geoprópolis de abelha sem ferrão de diferentes regiões da Bahia considerando os seus constituintes fenólicos e atividade antioxidante.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Abelha sem Ferrão

As abelhas sem ferrão (Meliponíneos) são o maior grupo de abelhas do mundo. Mais de 500 espécies foram descritas e estão espalhadas por todas as áreas tropicais e subtropicais do planeta. Têm uma grande importância ecológica, principalmente como polinizadores na maioria dos ecossistemas tropicais, sendo comumente encontrada na América do Sul, América Central, sul da América do Norte, África, Sudeste Asiático e na Oceania do Norte (HRNCIR et al., 2016; MICHENER, 2013).

As abelhas sem ferrão pertencem à família Apidae e a subfamília Meliponinae, e diferem das abelhas *Apis mellifera* (popularmente conhecidas como Européias, Italianas ou Africanas) em muitos aspectos, incluindo tamanho da colônia, eliminação de crias, produção de abelhas rainhas, estratégia de forrageamento e mecanismos de recrutamento de abelhas (HRNCIR et al., 2016). Essas abelhas possuem o tamanho individual variando de 2 mm a 14 mm e apresentam um ferrão atrofiado, tornando-as incapazes de ferocar, mas desenvolveram outros métodos de defesa, como forte mordida e glândulas mandibulares capazes de produzir ácido fórmico, potencializando a dor da mordida (LANDIM, 2009; RODRIGUES, 2005).

De acordo com Pedro, S. R. M. (2014), cerca de 89 espécies são endêmicas no Brasil, o que corresponde a aproximadamente 20% do total de abelhas neotropicais sem ferrão. Dentre os gêneros com maior número de espécies conhecidas estão: Uruçu Nordestina (*Melipona scuteilaris*), Mandaçaia (*Melipona quadrifasciata* Lep.), Jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille), Jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke), Mirim (*Plebeia* sp), Rajada (*Melipona asilvae*) e Canudo (*Scaptotrigona* sp) e que alcançam maior destaque nas regiões Norte e Nordeste, em virtude da criação racional de várias espécies (ALVES et al., 2007). A Figura 1 ilustra algumas das principais espécies de abelhas sem ferrão que são endêmicas no Brasil.

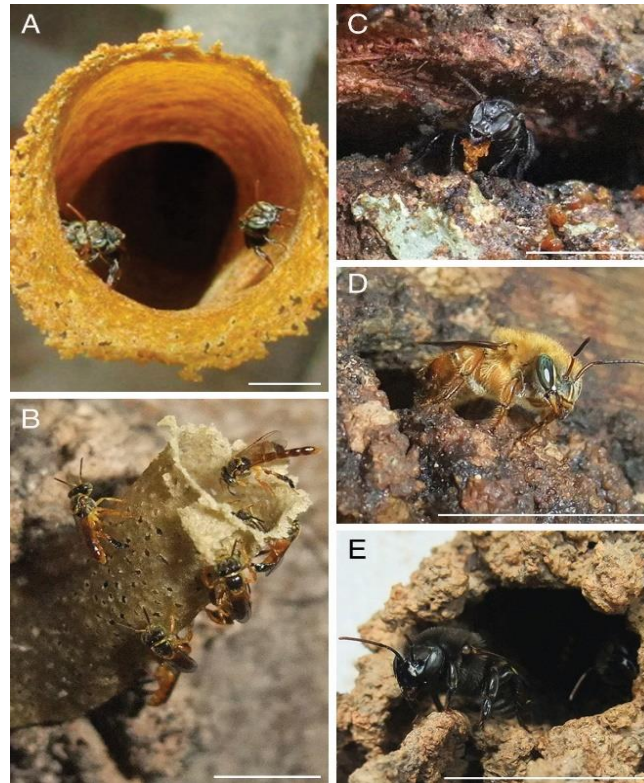


Figura 1 - Abelhas sem ferrão brasileiras. (A) *Nannotrigona testaceicornis*; (B) *Tetragonisca angustula*; (C) *Scaptotrigona* sp.; (D) *Melipona rufiventris*; (E) *Melipona quadrifasciata*. Fonte: Lavinias et al., 2019.

A abelha Uruçu Nordestina - *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae, Meliponini) (Figura 2) é uma importante espécie de abelha nativa brasileira da região Nordeste do Brasil (MIOTELO et al., 2021). Essa abelha se destaca dentre as demais, por realizar a polinização por zumbido, que é considerado um mecanismo essencial para plantas com anteras porosas, afetando assim a produção e a qualidade de urucum, pimentão, tomate e outras culturas (CARO et al., 2016; KLEIN et al., 2020). Nas lavouras, as abelhas sem ferrão podem polinizar efetivamente morango, frutas cítricas, abacate, pêssego, girassol, açaí, mas em alguns casos específicos como os citados acima, a polinização por zumbido é necessária, por isso a importância da Uruçu Nordestina dentre as demais (DE LUCA & VALLEJO-MARÍN, 2013; KLEIN et al., 2020).



Figura 2 - Geopropolis da Uruçu Nordestina (*Melipona scutellaris*). Fonte: Miotelo et al. (2021).

Os Meliponíneos apresentam produtos e subprodutos muito valorizados economicamente, tais como mel, pólen, própolis e geopropolis, sendo esses os principais atrativos para a sua criação racional e manejo (LOPES et al., 2005). Uma característica que diferencia a abelha sem ferrão da abelha *Apis mellifera* é o armazenamento do mel. O mel produzido pelas abelhas sem ferrão é armazenado em favos de cerume, feitos com cera e própolis, enquanto o mel produzido pela *Apis mellifera* é armazenado em favos compostos apenas por cera (BALLIVIÁN, 2008). Santos et al. (2021) destacaram o alto potencial bioativo do mel de abelhas sem ferrão, compilando os estudos mais recentes sobre o perfil fenólico e seu potencial biológico (atividades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória).

Lavinas e colaboradores (2019) investigaram a atividade biológica de produtos apícolas provenientes das abelhas sem ferrão, especialmente própolis e geopropolis. Os resultados revelaram propriedades terapêuticas promissoras, com fortes evidências de que seus constituintes químicos apresentam interessante capacidade antioxidante e efeitos antimicrobianos. Campêlo et al. (2015) avaliaram a atividade antimicrobiana da própolis e da cera de três diferentes espécies de abelhas sem ferrão criadas no semiárido brasileiro. A análise do potencial antimicrobiano demonstrou que a própolis das espécies Cupira, Jati, Canudo e Jandaíra apresentaram atividade contra os microrganismos *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Miorin et al. (2003) compararam a composição química e atividade antibacteriana do mel e da própolis das abelhas sem ferrão *Tetragonisca angustula* e *Apis mellifera* provenientes dos estados de Paraná e Minas Gerais por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os autores observaram que, quando comparadas as amostras de mel e própolis, as amostras de própolis da abelha *T. angustula* apresentaram maior atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e que as composições químicas do mel e da própolis das duas abelhas eram diferentes, com base na origem geográfica de cada espécie.

Óleos essenciais de amostras de própolis das abelhas sem ferrão *Apis mellifera* e *Melipona becheii* provenientes do México, foram analisados através dos resultados obtidos por CG/MS, concluindo que, embora a flora ao redor das duas colméias fossem similares, as amostras tinham composições diferentes, sendo possível identificar 99 compostos bioativos na própolis de *A. mellifera* e 94 na própolis de *M. becheii*. Observou-se que a própolis produzida pelas duas espécies, mesmo quando provenientes da mesma região, frequentemente apresentaram composições diferentes (PINO et al., 2006).

2.2. Própolis

A própolis é uma mistura muito complexa, composta por material resinoso e balsâmico coletada pelas abelhas dos ramos, flores, brotos e exsudatos de árvores e também é possível encontrar secreções salivares depositadas pelas próprias abelhas. Ela consiste em 50% de resina e bálsamo vegetal, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de outras substâncias que incluem compostos orgânicos e minerais (JIMÉNEZ et al., 2020).

A palavra própolis é derivada do grego, onde *pro* significa “em defesa de” e *polis* “cidade”, isto é, em defesa da cidade ou da colmeia (MENDONÇA, 2011). A Instrução Normativa N° 3, de 19 de janeiro de 2001, ao aprovar os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de produtos apícolas, define própolis como o produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, colhidas pelas abelhas de brotos, flores e exsudatos de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto (BRASIL, 2001).

A própolis é considerada uma das misturas mais heterogêneas encontradas em fontes naturais. Mais de 300 constituintes foram identificados e/ou caracterizados em diferentes amostras de própolis, como os flavonóides, ácidos aromáticos, ácidos graxos, fenóis, aminoácidos, dentre outros (RIGHI, 2008). As atividades biológicas da própolis estão diretamente ligadas à sua composição química. No Brasil, são descritas atividades biológicas e composição química distinta para diferentes amostras de própolis coletadas em diferentes partes do país, como da própolis vermelha que foi coletada em Canavieiras - Bahia (ALDANA-MEJÍA et al., 2021), Maceió – Alagoas (SANTOS et al., 2021) e Tamandaré - Pernambuco (COSTA et al., 2021), da própolis verde proveniente de Minas Gerais (HIRATA et al., 2021) e de Salvador – Bahia (SILVEIRA et al., 2021), da própolis marrom coletada em Borda da Mata - Minas Gerais (LIMA, 2019) e em Marechal Deodoro - Alagoas (ANDRADE et al., 2017).

A vegetação muda de acordo com a localização geográfica e, conseqüentemente, a composição da própolis também apresenta essas variações. Desse modo, enquanto as amostras provenientes da Europa e China contém em sua composição ácido benzoico e seus ésteres, ácidos e

ésteres fenólicos substituídos, flavonoides, carboidratos, ácidos graxos, terpenos e outros (MARCUCCI, 1995), na própolis proveniente do Brasil os principais constituintes são ácidos fenólicos prenilados, lignanas, terpenos e álcoois terpênicos e pequenas quantidades de flavonoides (BANKOVA, 2000).

Ainda não se sabe quais são os fatores que influenciam a preferência das abelhas por uma determinada fonte vegetal, mas é sabido que elas são muito seletivas na coleta (SALATINO et al., 2005). E, de acordo com Bankova (2005) e Silva et al. (2008), dentre as várias fontes vegetais da própolis brasileira, destaca-se a *Baccharis* spp., a *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo), *Dalbergia ecastophyllum* (rabo-de-bugio), *Araucária angustifolia* (pinheiro brasileiro) e o *Eucalyptus citriodora* (eucalipto).

2.3. Geoprópolis

A geoprópolis é produzida pelas abelhas e consiste numa mistura composta por resinas orgânicas, cera, solo e/ou argila, sendo que a presença de argila é a característica principal que a diferencia da própolis e, devido à grande quantidade de minerais em sua composição, podem apresentar menos maleabilidade quando comparadas a própolis (PEREIRA et al., 2017). A abelha coleta material resinoso das plantas e traz para sua colméia, misturando com cera e barro ou terra e formando a geoprópolis, depositando esse produto na colmeia a fim de vedar rachaduras, delimitar as cavidades e impedir a entrada excessiva de ar (KERR, 1987; BANKOVA et al., 2014).

A geoprópolis é caracterizada por apresentar fragmentos rígidos, de tamanhos variados e grânulos de consistência heterogênea. Sua coloração comumente é marrom escura e depende do material que a constitui, ou seja, das fontes resiníferas e do solo coletadas pelas abelhas, as quais diferem de acordo com a região em que as colônias foram instaladas (CUNHA et al., 2004). Barth (2006) em um estudo sobre as propriedades físicas e químicas da geoprópolis, afirma que a coloração vermelha acastanhada/marrom escura, consistência arenosa e o odor suave são justificados pela presença de barro/argila em sua composição.

Sua composição química é complexa, pois varia muito de acordo com a flora e clima característicos da região geográfica de onde é coletada. E, como as abelhas apresentam hábitos alimentares muito abrangentes, conseqüentemente a geoprópolis possui grande variação em sua composição, mesmo quando provenientes de uma mesma região (CARDOZO et al., 2015). A flora do estado da Bahia é rica em diversidade de espécies de plantas provenientes dos biomas Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica, sendo considerado o estado mais plural da Federação, o que contribui para produção de geoprópolis com diferentes composições bioativas e com grande potencial químico (SFORCIN et al., 2017; ARAÚJO, 2013; IBGE, 2022).

De acordo com Souza (2011) a sazonalidade influencia diretamente na atividade de produção da geoprópolis e, em um estudo desenvolvido pelo referido autor, a produção da geoprópolis alcançou valores satisfatórios de produção em todas as estações do ano, porém obteve maior produtividade no inverno. Para Dutra (2006) a geoprópolis formada em regiões de ecossistemas heterogêneos favorecem uma associação da origem botânica aos fatores climáticos da região, implicando na variação existente dos constituintes químicos no produto final. A Figura 3 demonstra o clima predominante em cada região do estado da Bahia, evidenciando as diferenças climáticas existentes, o que pode gerar diferenças na composição bioativa da geoprópolis produzidas nessas diferentes áreas.

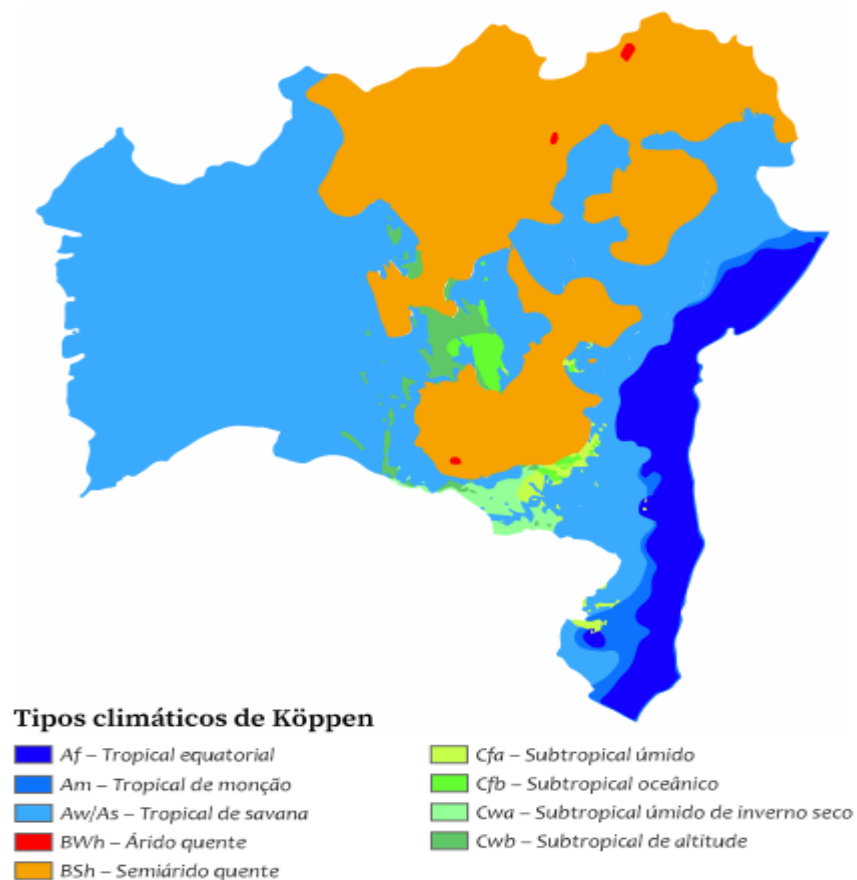


Figura 3 - Mapa de classificação climática das regiões do estado da Bahia. Fonte: Alvares, 2013.

2.3.1. Composição Química e atividade biológica da Geoprópolis

Informações sobre a composição química e a atividade biológica da geoprópolis de abelha sem ferrão são de grande importância para identificar o padrão de qualidade desse produto natural. No Brasil, os parâmetros para as análises de geoprópolis e extratos de geoprópolis produzidas por abelhas sem ferrão baseiam-se na Instrução Normativa 3/2001 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2001). Em sua composição química constam muitos produtos naturais bioativos como

polifenóis, flavonoides e ésteres do ácido cafeico (ARAÚJO, 2013). Mais de cinquenta compostos presentes na geoprópolis brasileira já foram identificados, reforçando a sua alta composição bioativa (SFORCIN et al., 2017).

Atividades biológicas da geoprópolis têm sido investigadas em todo o mundo, incluindo anti-inflamatória (GUZMÁN-GUTIÉRREZ et al., 2018), antioxidante (FERREIRA et al., 2018), anticâncer (BARTOLOMEU et al., 2016) antimicrobiana (LAVINAS et al., 2019), antinociceptiva (FRANCHIN et al., 2012), antiviral, antiúlcera e hipotensora (MARCUCCI, 1995). As propriedades medicinais da própolis de abelha sem ferrão estão diretamente associadas à sua composição química. Estudos realizados com a própolis de abelhas sem ferrão descrevem a presença de ácidos fenólicos, ácidos aromáticos, terpenos e carboidratos (VELIKOVA et al., 2000; MIORIN et al., 2003). As atividades antibacterianas e antifúngicas estão associadas a presença de ácidos prenilados p-cumarínicos e os diterpenos (BANKOVA, 2005).

Cardozo et al. (2015) avaliaram a composição química e a capacidade antirradicalar de geoprópolis coletadas em meliponários da região de Prudentópolis no estado do Paraná e identificaram 12 componentes bioativos em todas as amostras analisadas e apontou que a espécie da abelha, a região e a época de coleta influenciaram significativamente nos teores de fenóis totais, flavonoides e na capacidade antirradicalar.

Silva et al. (2016) desenvolveram uma pesquisa sobre a capacidade antioxidante de cinco amostras de geoprópolis provenientes do estado do Rio Grande do Norte, constatando que a capacidade antioxidante foi superior a 90% em todas as amostras observadas. Outro estudo desenvolvido no mesmo estado, realizado por Ferreira et al. (2017), destaca as características químicas da geoprópolis, principalmente sobre seu efeito antioxidante devido a presença de flavonoides.

Recentemente, Souza et al. (2018) descreveu um trabalho com nove amostras de *M. subnitida* (Jandaíra), que foram coletadas em meses diferentes dos anos 2010 a 2013, e analisadas por UPLC - DAD - QTOF - MS / MS. Essa análise resultou na caracterização de 51 compostos fenólicos, sendo 4 galoil glucosídeos, 1 ácido elágico, 11 acil-hexosídeos, 23 acil-galoil-hexosídeos e 12 flavonóides. Dutra et al. (2014) avaliaram a geoprópolis da espécie *Melipona fasciculata* recorrente nas regiões norte e nordeste do Brasil e constataram que ela possui alto conteúdo fenólico e que já foram isolados 11 compostos fenólicos, também com alta atividade antioxidante, dentre eles a dilactona do ácido valonéico e o ácido elágico.

Souza et al. (2013) realizou um outro estudo com a geoprópolis de outras espécies brasileiras do gênero *Melipona* e constatou a possibilidade de isolar diversas substâncias com várias atividades biológicas como os flavonóides 7-O-metil-naringenina, 7-O-metil-aromadendrina. Santos et al.

(2017) descreveram a composição química relacionada aos flavonóides, terpenóides e ácidos fenólicos glicosilados do extrato hidroalcoólico da geoprópolis da *Melipona orbignyi* do estado do Mato Grosso do Sul que foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos e espectrometria de massa (HPLC-DAD-MS) encontrando flavonóides, aromadendrina e naringenina.

Análises de extratos etanólicos de geoprópolis de abelha em ferrão por HPLC-DAD-MS mostraram a eficácia da técnica em identificar diversas substâncias. A análise cromatográfica de um extrato etanólico 70% de uma amostra de geoprópolis coletada no estado do Maranhão mostrou o ácido elágico como a principal substância de uma mistura complexa de taninos e outros compostos fenólicos (DUTRA et al., 2014). O extrato de etanólico 70% da geoprópolis de *Melipona fasciculata* proveniente do Nordeste Brasileiro mostrou constituintes como carboidratos, triterpenos, fenólicos e álcoois de açúcar. Os principais componentes foram o triterpeno lupeol e o ácido anacárdico fenólico (6) (ARAÚJO et al., 2015). O extrato etanólico da geoprópolis de *Melipona scutellaris* demonstrou atividade antinociceptiva para diferentes modelos e sua composição química demonstrou presença significativa de compostos fenólicos (FRANCHIN et al., 2012).

Cordeiro e Menezes (2014) em estudo da capacidade produtiva de geoprópolis provenientes de três espécies de abelha sem ferrão, constataram que uma espécie se mostrou mais produtiva dentre as demais, devido ela ser adaptada as condições climáticas da região em estudo. Souza et al. (2013) determinaram a ação antioxidante da geoprópolis de *Melipona subnitida*, e constataram que a alta capacidade é resultante da presença de flavonoides e fenilpropanoides. Dutra et al. (2014) estudaram a geoprópolis de *Melipona fasciculata* provenientes da Baixada Maranhense e ela apresentou importante ação antioxidante, relacionada aos altos níveis de compostos fenólicos, como ácidos fenólicos, galotaninos, elagitaninos e ausência de alcaloides.

2.4. Espectroscopia por Infravermelho

A espectroscopia é definida como o estudo da interação da radiação eletromagnética a fim de estudar a composição, estrutura e propriedades da matéria. É o conjunto de técnicas que analisam as substâncias baseadas na interpretação de espectros de emissão e absorção de radiações eletromagnéticas produzidas, se baseando nas diferentes frequências do espectro eletromagnético (SIESLER et al., 2008; SUN, 2009).

A maioria dos compostos orgânicos ou inorgânicos que possuam ligações covalentes absorvem várias frequências da radiação eletromagnética na região do infravermelho do espectro eletromagnético, essa região envolve comprimentos de onda entre àqueles associados à luz visível e os associados a micro-ondas (MENDHAM et al., 2002).

Skoong, Holler & Nieman (2009) destacaram que a região do infravermelho do espectro eletromagnético compreende a radiação com número de onda que varia de 12.800 a 10 cm^{-1} ou com comprimento de onda de 0,78 a 1.000 μm . Ela é dividida em três regiões: o infravermelho próximo (NIR - Near Infrared - região das harmônicas) que compreende a faixa de 0,78 - 2,5 μm ($12.800 - 4.000\text{ cm}^{-1}$); o infravermelho médio (MIR - Middle Infrared - região de vibração-rotação) que varia de 2,5 - 50 μm ($4.000 - 200\text{ cm}^{-1}$) e o infravermelho distante (FIR - Far Infrared - região de rotação) que abrange de 50 - 1.000 μm ($200 - 10\text{ cm}^{-1}$).

A Espectroscopia por Infravermelho emite energia suficiente para excitar transições vibratórias e rotacionais e a forma de vibração de cada molécula está diretamente relacionada ao número de ligações e átomos que ela contém. As moléculas só conseguem absorver radiação infravermelha quando sofrem uma mudança no momento dipolo e essa absorção só acontece se a sua frequência corresponder à frequência vibracional das moléculas (CHRISTIAN, DASGUPTA & SCHUG, 2014).

Turco et al. (2020) utilizaram espectros NIR de extratos etanólicos de geoprópolis de abelhas sem ferrão brasileiras para construir modelos de regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) com o objetivo de prever a capacidade antioxidante e Conteúdo Flavonóide Total desses extratos. Cai et al. (2012) utilizaram NIRS para identificação da origem geográfica e determinação do conteúdo de flavonoides de própolis de origem chinesa, constatando que ele é uma ferramenta adequada para a análise rápida da própolis, podendo ser estendido também ao controle de qualidade da matéria-prima da própolis.

Venegas et al. (2016) estudou um novo método utilizando o NIR para determinação de éster fenílico de ácido cafeico e atividade antioxidante de amostras de própolis, demonstrando que esse novo método é simples, rápido e barato, tornando-se uma excelente alternativa de uso para parâmetros de qualidade de amostras de própolis, contribuindo para solucionar problemas de padronização da própolis.

Lima et al. (2022) utilizaram espectroscopia NIR e MIR para prever conteúdos fenólicos e antioxidantes simultâneos na própolis vermelha do estado da Bahia, aliados a análise multivariada. Xu e colaboradores (2013) avaliando a detecção da adulteração da própolis chinesa por álamo-balata através da análise FTIR utilizando métodos quimiométricos, observaram que a partir de 2% de adulterante foi possível detecção pelos métodos utilizados, demonstrando potencial para análise rápida de adulterações na própolis chinesa.

Como mencionado acima, através da Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier, é possível identificar grupos funcionais que podem estar associados a muitos compostos da própolis e geoprópolis, como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Compostos bioativos e seus respectivos números de onda na Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier.

Número de onda (cm⁻¹)	Grupos Funcionais	Autores
900 - 650	Ligações de C=C de anéis aromáticos	Barbosa, 2007.
1467	Vibrações de hidrocarbonetos	Nascimento et al. (2021)
1300 - 1050	Grupos de C-O que são relacionadas a vibrações de aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e ésteres	Skoog et al. (2017)
1600 - 1500	Ligações de C=C de anéis aromáticos	Skoog et al. (2017)
1760 - 1690	Grupo C=O que são relacionadas a vibrações de aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e ésteres	Skoog et al. (2017)
1670 - 1630	Grupo C=O relacionadas a vibrações de amida alifática saturada.	Barbosa, 2007.
1736	Alongamento de vibrações das carbonilas de ésteres	Nascimento et al. (2021)
2200 - 2000	Vibrações de aminas	Workman Junior, 2000.
2916 - 2849	Alongamento de vibrações do grupo C-H características de grupos alifáticos	Nascimento et al. (2021)
2971 - 2851	Ligação C-H características de grupos alifáticos	Nascimento et al. (2021)
3686 - 3000	Sobreposição de grupos hidroxila OH e NH ³⁺ de aminoácidos	Nascimento et al. (2021)
3590 - 3200	Água, álcoois, fenóis e outros compostos aromáticos contendo grupo OH	Barbosa, 2007.

2.5. Quimiometria

A quimiometria é considerada a aplicação de métodos matemáticos, estatísticos e computacionais para investigar, interpretar, classificar e fazer previsão de conjuntos de dados de interesse químico (SOUZA e POPPI, 2012). Devido isso, vários procedimentos quimiométricos são utilizados para diversos fins, como a otimização de experimentos, classificação e calibração de dados, análise exploratória, seleção de variáveis, dentre outros. Especificamente para a classificação e calibração, o modelo estatístico multivariado considera a correlação entre as amostras, as variáveis e entre amostras e variáveis analisadas simultaneamente, possibilitando a obtenção de uma maior quantidade de informação. Ela é frequentemente utilizada com produtos naturais, onde é necessário extrair informação de um grande número de variáveis. Seus objetivos são, principalmente, correlacionar dados, classificar objetos, simplificar dados complexos e mostrar correlação entre as variáveis (PAULA, 2014; TEÓFILO E FERREIRA, 2006).

De acordo Hongyu, Sandanielo & Oliveira Júnior (2015), a técnica mais conhecida da Análise Multivariada é a Análise de Componentes Principais, que consiste em reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados, com menor perda possível de informações, transformando o conjunto de variáveis originais em outro conjunto de variáveis denominadas de componentes principais. Essa análise é utilizada para identificar as inter-relações entre as amostras e possíveis agrupamentos, selecionar os dados experimentais adequados para a construção do modelo e identificar e eliminar os outliers (PEREIRA et al., 2022)

Outra técnica que objetiva a redução da dimensionalidade dos dados é a análise de agrupamento, também conhecida como análise de conglomerados ou *cluster*. Seu objetivo é dividir em grupos os elementos de uma amostra ou população, de modo que os elementos pertencentes a um mesmo grupo sejam similares entre si em relação a determinadas características e diferentes entre grupos em relação a essas mesmas características. A partir dessa seleção, obtêm-se grupos que exibem um alto grau de homogeneidade interna e alta heterogeneidade externa (CORRAR, 2007; MINGOTI, 2005).

A análise de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais também é uma técnica muito utilizada, pois trabalha com o espectro completo, não parte da hipótese de que as variáveis sejam não correlacionadas e não é necessário que os resíduos sigam uma distribuição normal, o que favorece a sua utilização para predição com dados de espectroscopia no infravermelho (LIMA, 2022).

Ristivojević et al. (2014) utilizaram os dados de cromatografia em camada delgada de alta eficiência combinados com métodos quimiométricos, para o reconhecimento de padrões na classificação de 52 amostras de própolis coletadas na Sérvia e 1 amostra proveniente da Croácia. Para isso utilizaram três métodos multivariados: Análise de Componentes Principais, Análise de

Agrupamento Hierárquico e Mínimos Quadrados Parciais para Análise Discriminante, a fim de classificar todas as amostras estudadas em dois grupos principais de própolis (laranja e azul), apoiando a ideia da existência de dois tipos de própolis europeia.

A espectroscopia no infravermelho associado à análise multivariada tem sido amplamente explorada nas análises de autenticidade em alimentos. Turco e colaboradores (2020) utilizaram espectros NIR de extratos etanólicos de geoprópolis de abelhas sem ferrão brasileiras para construir modelos de regressão mínima quadrada parcial (PLS) para prever a capacidade antioxidante e Conteúdo Flavonoide Total, constatando que todos os modelos PLS foram apropriados para estimar esses parâmetros, sendo considerada uma metodologia rápida e de baixo custo.

Nunes e Guerreiro (2012) estudaram a influência das diferentes safras sobre a composição química de oito classes comerciais de própolis verde brasileira in natura. Para isso, utilizaram dados obtidos por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa com extração headspace (HS - GC / MS) e por espectrometria de massa com ionização por eletrospray (ESI - MS), associadas com a Análise de Componentes Principais. Os dados obtidos por HS-CG/MS e ESI-MS aliados à análise multivariada se mostraram eficazes para caracterizar substâncias voláteis e não voláteis das amostras e correlacioná-la com as diferentes estações do ano, demonstrando a formação de grupos com diferentes composições químicas, como apresentado na Figura 4.

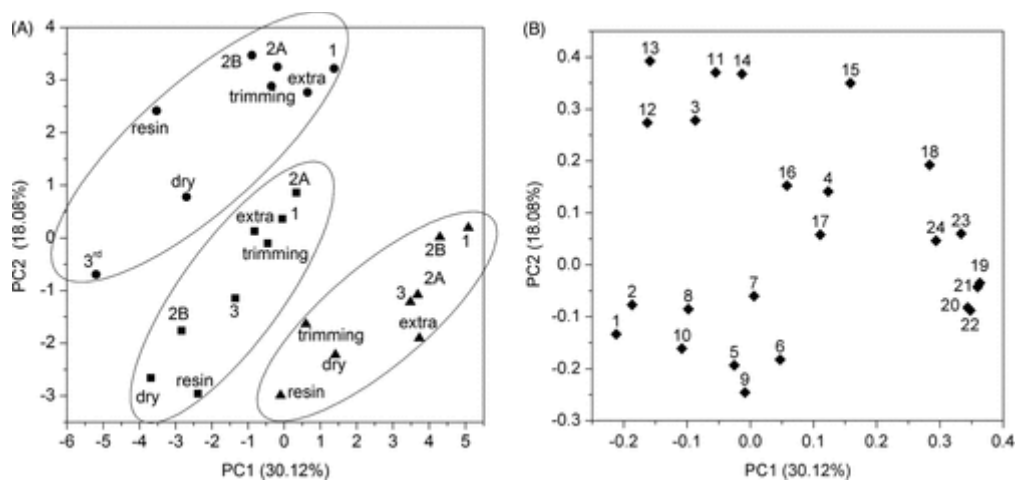


Figura 4 - Gráficos de PCA de escores (A) e carregamentos (B) para dados HS-GC/MS de amostras de própolis verde da primavera (●), verão (■) e outono (▴). Fonte: Nunes e Guerreiro (2012).

Tomazzoli et al. (2015) aplicaram Análise de Componentes Principais e Análise de Agrupamento Hierárquico ao conjunto de dados obtidos por espectrofotometria de varredura UV-Visível, provenientes de setenta e três extratos hidroalcoólicos de própolis recolhida durante as estações do ano em 2014 (verão, primavera, outono e inverno) e 2015 (verão e outono) do Sul do Brasil. Este estudo objetivou estudar o efeito da sazonalidade sobre a composição química dessas

amostras de própolis determinadas por alterações na flora da região geográfica em estudo. Os perfis de UV-visível associado à análise quimiométrica, permitiram identificar um padrão típico entre as amostras de própolis coletadas no verão, como apresentado na Figura 5.

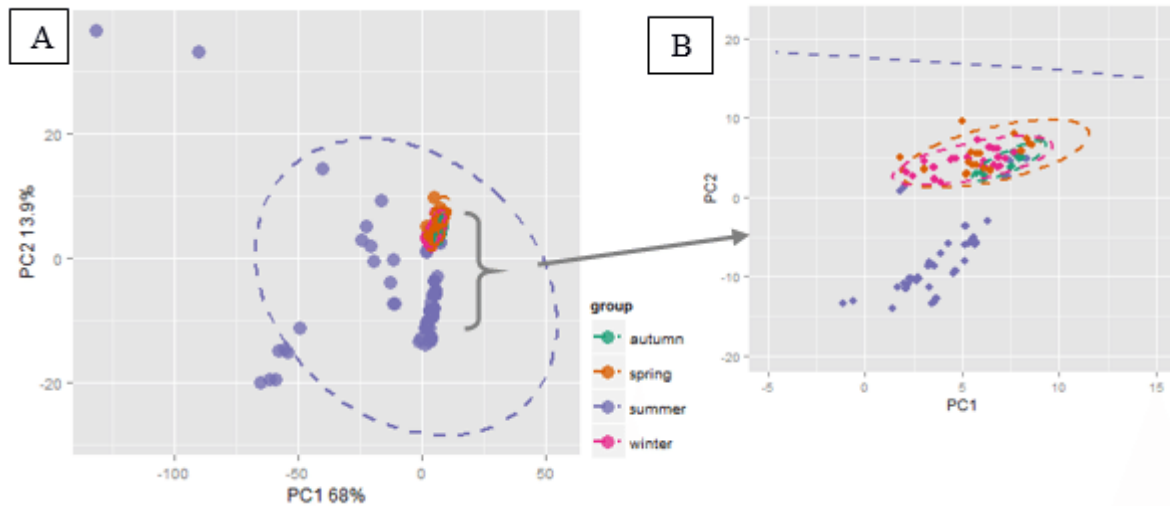


Figura 5 - Gráfico de PCA demonstrando a dispersão do perfil espectral UV-Vis de amostras de própolis coletadas em 2014 (verão, primavera, outono e inverno) no sul do Brasil. (B) Amplificação das amostras sobrepostas em PCA. Fonte: Tomazzoli et al. (2015).

Calegari e colaboradores (2017), avaliaram o efeito da sazonalidade de própolis do sul do Paraná na atividade antioxidante e perfil de fenólicos totais por análise de componentes principais. Observaram que ocorreu a separação de amostras de própolis produzidas nos meses mais quentes (março e abril) daquelas produzidas nos meses mais frios (maio e junho), como também uma correlação entre a análise de componentes principais e a atividade antioxidante através do sequestro de radicais DPPH.

II OBJETIVOS GERAIS

1. Objetivo Geral

Caracterizar geoprópolis de abelha sem ferrão de diferentes regiões da Bahia considerando os seus constituintes fenólicos e atividade antioxidante.

2. Objetivos Específicos

- Determinar o potencial bioativo das amostras de geoprópolis da Bahia de acordo com a atividade antioxidante;
- Avaliar a composição de fenólicos e flavonoides totais de amostras de geoprópolis através de análises convencionais utilizando UV-VIS e cromatografia líquida;
- Obter dados de espectros de amostras de geoprópolis do estado da Bahia utilizando MIR a fim de identificar compostos que caracterizam as amostras;
- Aplicar técnicas de análise multivariada para classificação e agrupamento de amostras de geoprópolis visando seu potencial antioxidante;
- Aplicar técnica de análise multivariada para predição da composição bioativa da geoprópolis de abelha sem ferrão da Bahia.

III MATERIAL E MÉTODOS

1 Material

Foram obtidas 35 amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão de diferentes espécies e regiões do estado da Bahia, com suas características climáticas e de vegetação muito particulares. Essas amostras foram adquiridas nas cidades Araçás, Jussari, Sauipe, Ilhéus, Vitória da Conquista e Mucugê, sendo cada uma coletada de uma colmeia e/ou produtores e meses de anos diferentes, sendo de março de 2020 a novembro de 2021, garantindo assim a heterogeneidade das amostras, como apresentado na Tabela 2.

As amostras foram transportadas até a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, campus de Itapetinga, e armazenadas a -4°C até a realização das análises.

Tabela 2 - Espécie de abelha, local, coordenada geográfica, estação, mês e ano de coleta das amostras analisadas.

Amostra	Espécie de abelha sem ferrão	Local de coleta	Coordenada Geográfica	Mês/Ano de coleta	Estação do ano
B1	<i>Melipona scutellaris</i>	Araçás	12°12'11.9"S 38°13'06.5"W	Julho/2020	Inverno
B2	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Março/2020	Outono
B3	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Abril/2020	Outono
B4	<i>Melipona scutellaris</i>	Araçás	12°12'11.9"S 38°13'06.5"W	Julho/2020	Inverno
B5	<i>Melipona scutellaris</i>	Jussari	15°11'17.5"S 39°29'31.6"E	Julho/2020	Inverno
B6	<i>Melipona scutellaris</i>	Araçás	12°12'11.9"S 38°13'06.5"W	Julho/2020	Inverno
B7	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Junho/2020	Primavera
B8	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Dezembro/2020	Primavera
B9	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Janeiro/2021	Verão
B10	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Fevereiro/2021	Verão
B11	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Abril/2021	Outono
B12	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Março/2021	Verão
B13	<i>Melipona scutellaris</i>	Ilhéus	14°47'45.9"S 39°08'57.2"W	Maió/2020	Outono
B14	<i>Melipona scutellaris</i>	Ilhéus	14°47'45.9"S 39°08'57.2"W	Julho/2020	Inverno
B15	<i>Melipona scutellaris</i>	Ilhéus	14°47'45.9"S 39°08'57.2"W	Agosto/2020	Inverno
B16	<i>Melipona scutellaris</i>	Ilhéus	14°47'45.9"S 39°08'57.2"W	Fevereiro/2021	Verão
B17	<i>Melipona scutellaris</i>	Ilhéus	14°47'45.9"S 39°08'57.2"W	Março/2021	Outono
B18	<i>Melipona scutellaris</i>	Ilhéus	14°47'45.9"S 39°08'57.2"W	Junho/2021	Inverno
B19	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Maió/2021	Outono
B20	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Junho/2021	Primavera
B21	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Julho/2021	Inverno
B22	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Agosto/2021	Inverno
B23	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Setembro/2021	Inverno
B24	<i>Melipona scutellaris</i>	Sauípe	12°23'30.2"S 37°52'55.1"W	Outubro/2021	Primavera

B25	<i>Melipona scutellaris</i>	Vitória da Conquista	14°52'51.3"S 40°50'23.6"W	Outubro/2021	Primavera
B26	<i>Melipona quadrifasciata</i>	Vitória da Conquista	14°52'51.3"S 40°50'23.6"W	Outubro/2021	Primavera
B27	<i>Melipona scutellaris</i>	Ilhéus	14°47'45.9"S 39°08'57.2"W	Agosto/2021	Inverno
B28	<i>Melipona scutellaris</i>	Ilhéus	14°47'45.9"S 39°08'57.2"W	Setembro/2021	Primavera
B29	<i>Melipona scutellaris</i>	Ilhéus	14°47'45.9"S 39°08'57.2"W	Outubro/2021	Primavera
B30	<i>Melipona scutellaris</i>	Ilhéus	14°47'45.9"S 39°08'57.2"W	Novembro/2021	Primavera
B31	<i>Melipona scutellaris</i>	Mucugê	13°00'31.2"S 41°22'17.8"W	Novembro/2021	Primavera
B32	<i>Melipona quadrifasciata</i>	Mucugê	13°00'31.2"S 41°22'17.8"W	Novembro/2021	Primavera
B33	<i>Plebeia droryana</i>	Mucugê	13°00'31.2"S 41°22'17.8"W	Novembro/2021	Primavera
B34	<i>Tetragonisca angustula</i>	Mucugê	13°00'31.2"S 41°22'17.8"W	Novembro/2021	Primavera
B35	<i>Scaptotrigona postica</i>	Mucugê	13°00'31.2"S 41°22'17.8"W	Novembro/2021	Primavera

Fonte: Autor

2 Caracterização das amostras

2.1. Obtenção do extrato

O extrato etanólico foi preparado de acordo com a metodologia descrita por Batista et al. (2016) com adaptações na quantidade de própolis bruta e etanol. As amostras de geoprópolis foram congeladas a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, trituradas em multiprocessador e peneiradas até obtenção de um pó. Após isso, 15 gramas de amostra foram pesadas em balança analítica e completadas com etanol: água 70:30 (v. v⁻¹) até obter o volume de 50 mL. A mistura foi agitada em mesa agitadora Quimis® a 200 rpm, em temperatura ambiente, durante 15 horas e, passado esse período, retirou-se o sobrenadante que foi centrifugado (Centrífuga Hettich - Universal 320 R) a 3.000 rpm por 5 minutos, obtendo-se o extrato etanólico de geoprópolis.

2.2. Constituintes Fenólicos Totais – CFT

O conteúdo fenólico total foi determinado pelo método colorimétrico de Folin Ciocalteu, com algumas adaptações (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1998). Para isso, a reação foi preparada com uma alíquota de 0,5 mL de extrato de geoprópolis na concentração de 0,4 mg. mL⁻¹, 2,5 mL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5%. Essa mistura foi introduzida em banho maria a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 15 minutos. Em seguida, foi retirada e mantida ao abrigo de luz e temperatura ambiente por 30 minutos. A absorbância foi mensurada em um espectrofotômetro (Marca Shimadzu Modelo UV-1800) a 750 nm.

Usando uma curva de calibração preparada com uma concentração conhecida de solução padrão de ácido gálico (0,01 a 0,1 mg ácido gálico. mL⁻¹ de solução), o teor de constituintes fenólicos totais foi expresso como equivalente de ácido gálico (EAG) (mg EAG / g amostra ou extrato).

2.3. Constituintes Flavonoides Totais - FT

Os constituintes flavonoides totais foram quantificados por espectrofotometria UV/VIS utilizando cloreto de alumínio, de acordo o método proposto por Sakanaka, Tachibana e Okada (2005) com algumas modificações. Para isso, 0,5 mL do extrato de geoprópolis na concentração de 1 mg. mL⁻¹, 2,5 mL de água destilada e 0,15 mL de nitrito de sódio 5% foram adicionados em tubos de ensaio. Essa mistura foi homogeneizada por agitação em vórtex e mantida em repouso por 6 minutos ao abrigo de luz. Posteriormente, adicionou-se 0,3 mL de uma solução metanólica de cloreto de alumínio 10%, agitada novamente no vórtex e mantida em repouso por 5 minutos ao abrigo de luz. Em seguida, 1 mL de hidróxido de sódio 1M e 0,55 mL de água destilada foram adicionados, obtendo

um volume final de 5 mL. A leitura da absorbância foi mensurada em um espectrofotômetro (Marca Shimadzu Modelo UV-1800) a 510 nm e, para o branco, utilizou-se etanol absoluto 99,5% substituindo a amostra.

A quantidade de constituintes flavonoides totais foi expressa como equivalente de catequina (mg de eq. catequina. g de amostra⁻¹) usando uma curva de calibração preparada com soluções de concentrações conhecidas do padrão de catequina (0,02 a 0,51 mg catequina. mL⁻¹ de solução) nas mesmas condições.

2.4. Determinação da atividade antioxidante *in vitro* pelo método DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil)

A atividade antioxidante *in vitro* da geoprópolis foi determinada pelo método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil-DPPH que consiste na captura do radical DPPH por antioxidantes levando à redução do composto e, conseqüentemente, diminuição da absorbância da solução (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Primeiramente a solução etanólica (Etanol absoluto 99,8%) do radical DPPH teve sua absorbância inicial ajustada para a faixa de 0,6 a 0,7 em um espectrofotômetro (Marca Shimadzu Modelo UV-1800) a 515 nm.

Posteriormente, uma alíquota de 0,1 mL referente a cada diluição do extrato (no mínimo cinco) foi transferida para tubos de ensaio e acrescentado 3,9 mL da solução etanólica do radical DPPH. Os tubos foram incubados por 30 minutos no escuro em temperatura ambiente e, posteriormente, a redução do radical livre DPPH foi medida através da leitura da absorbância a 515 nm. Em paralelo, o mesmo procedimento foi realizado substituindo a amostra de geoprópolis por etanol, sendo considerado o branco.

O valor de EC₅₀ (concentração de extrato necessária para sequestrar 50% do radical DPPH) foi calculado através de uma equação linear, construída com as cinco concentrações de extratos e suas respectivas porcentagens de sequestro de radical DPPH. Primeiramente deve-se observar se o valor da metade da absorbância da solução do DPPH estará no meio da curva construída com a absorbância das cinco concentrações de extratos e, só assim, gerar uma equação da reta com esses dados, que calculará a concentração de amostra necessária para sequestrar 50% do radical DPPH.

2.5. Determinação da capacidade antioxidante *in vitro* pelo método da co-oxidação do sistema β-caroteno: ácido linoleico – BCAL

O método de análise antioxidante pelo sistema β-caroteno: ácido linoleico utilizado foi descrito por Miller (1971). Para o preparo da mistura reativa, adicionou-se 50 µg de ácido linoleico,

200 mg de Tween 40, 1 mL de solução de β -caroteno a 1 mg. mL⁻¹ em clorofórmio. Posteriormente, a mistura foi submetida ao evaporador rotativo a 40 °C por 10 minutos para a completa evaporação do clorofórmio. A essa mistura isenta de clorofórmio, adicionou-se aos poucos 500 mL de água previamente saturada com oxigênio durante 30 minutos, agitando-se vigorosamente. A mistura reativa, assim preparada, apresentou absorvância entre 0,6 e 0,7 em 470 nm, medida em um espectrofotômetro (Marca Shimadzu, Modelo UV-1800). Outra mistura reativa foi preparada de forma semelhante, com exceção da adição da solução de β -caroteno para o branco.

Alíquotas de 5 mL da emulsão foram transferidos para tubos contendo 0,5 mL dos extratos na concentração de 1 mg. mL⁻¹ diluídos em etanol 70%, realizados em triplicata. Feita a mistura, os tubos foram agitados e imediatamente lidas as absorvâncias a 470 nm. Após a primeira leitura, os tubos foram incubados em banho maria a 50 °C para favorecer a reação de oxidação, e em intervalos de quinze minutos até completar 120 minutos, a leitura a 470 nm, foi repetida.

Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da oxidação. A redução da absorvância do sistema sem amostra (Equação 3) é considerada como 100% da oxidação.

$$\text{Redução da absorvância} = (\text{Abs inicial}) - (\text{Abs final}) \quad \text{Eq. 1}$$

O decréscimo da leitura da absorvância das amostras é correlacionado com o sistema e estabelece a percentagem de oxidação (Equação 2), subtraindo-se a percentagem de oxidação de cada amostra de 100 (Equação 3).

$$\% \text{ Oxidação} = [(\text{Redução Abs}) - (\text{amostra}) \times 100] / (\text{Redução Abs sistema}) \quad \text{Eq. 2}$$

$$\% \text{ Proteção} = 100 - (\% \text{ Oxidação}) \quad \text{Eq. 3}$$

2.6. Determinação da capacidade antioxidante *in vitro* pelo método de redução do ferro - Poder Redutor - PR

Avaliou-se o poder redutor de acordo o procedimento descrito por Oyaizu (1986), com algumas adaptações. Inicialmente 1,25 mL de cada extrato etanólico em cinco concentrações diferentes (0,2 a 3,0 mg. mL⁻¹) foi adicionado em tubos de ensaio, juntamente com 1,25 mL de solução tampão fosfato 0,2 M (pH 6,6) e 1,25 mL de ferricianeto de potássio a 1% (p.v⁻¹) e a mistura foi incubada a 50°C por 20 minutos. Posteriormente adicionou-se 1,25 mL de ácido tricloroacético a 10% (p.v⁻¹) e a mistura foi centrifugada (Centrífuga Hettich – Universal 320 R) a 1000 rpm durante 8 minutos. Um volume de 2,5 mL da mistura foi transferido para outro tubo de ensaio, adicionou-se 2,5

mL de água destilada e 0,5 mL de cloreto férrico a 0,1% (p.v⁻¹), submeteu-se o sistema à agitação e imediatamente as absorvâncias foram lidas a 700 nm em um espectrofotômetro (Marca Shimadzu, Modelo UV-1800).

A concentração do extrato correspondente a 0,500 de absorvância (CE₅₀) e foi calculada a partir da representação gráfica da absorvância registrada a 700 nm em função da concentração de cada extrato. Nesse ensaio, o aumento da absorvância indica um maior poder redutor dos íons férricos que implica em uma maior capacidade antioxidante (LIMA et al., 2022)

2.7. Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa - CLAE

Os extratos etanólicos preparados inicialmente foram diluídos em etanol 70% para a concentração de 2 mg.ml⁻¹ e filtrados utilizando uma membrana de 0,22 µm (Syringe Filter, PVDF030N022I, Taiwan) e injetados diretamente no sistema. Os experimentos cromatográficos foram realizados utilizando o sistema HPLC-SHIMADZU DGU-20A5R composto por uma coluna de fase reversa C18, com volume de injeção de 20 µm. A separação cromatográfica foi baseada no método proposto por Park et al. (2002) com algumas modificações.

A fase móvel utilizada para eluição dos compostos foi água/ácido acético (19:1, v.v⁻¹) (solvente A) e metanol (solvente B), com fluxo constante de 1 mL.min⁻¹. As concentrações variaram ao longo do tempo, O gradiente iniciou com 30% do solvente B variando até 40% de B em 15 minutos, 50% de B em 30 minutos, aumentando para 60% de B em 45 minutos, 75% de B em 65 minutos, 75% de B em 85 minutos, 90% de B em 95 minutos, 100% de B em 100 minutos e retomando para 30% de B em 110 minutos. O tempo total de corrida foi 120 minutos. A coluna foi mantida a temperatura de 35 °C.

As substâncias analisadas foram determinadas pela comparação com os espectros dos padrões na região ultravioleta de 200 a 400 nm obtidos por meio do detector de arranjo de diodos, utilizando o software LC solution. Foram utilizados padrões (Sigma Aldrich) de Ácido Cafêico, Ácido Ferúlico, Ácido Clorogênico, Ácido Gálico, Ácido Cumárico, Catequina, Epicatequina, Kaempferol, Quercetina, Naringenina, Biochanina A, Daidzeina, Formononetina em concentrações que variam de 0 a 1 mg/ mL para identificação e quantificação dos analitos presentes nas amostras.

2.8. Espectroscopia de infravermelho médio – MIR

A análise espectroscópica MIR foi realizada nas amostras da geoprópolis bruta. Os espectros foram obtidos por meio do FTIR-ATR: Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada (Agilent Cary® 630), utilizando-se a faixa espectral de 4000

a 600 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , 64 scans e leitura por meio do cristal de diamante, onde cerca de 1 grama do extrato etanólico da geoprópolis foi colocado sobre a superfície do diamante para realização das leituras. Durante a análise, a temperatura foi mantida em $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. Antes da leitura de cada amostra, uma leitura em branco foi realizada sem a amostra na superfície. Os números de onda onde ocorreram as máximas absorbâncias das bandas foram utilizados como as variáveis para realização da análise multivariada.

3 Análises Quimiométricas

O programa estatístico *Statistical Analysis System (SAS)*® *Studenty* foi utilizado para a análise de Componentes Principais (ACP), Análise de Agrupamento (AG) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (RMQP) dos dados obtidos.

3.1. Análise de Componentes Principais - ACP

A análise de Componentes Principais (ACP) foi realizada de acordo com Lima (2020), onde primeiramente organizou-se uma matriz $n \times p$ (linhas x colunas), cujas linhas dessa matriz de dados correspondem a amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão, enquanto as colunas correspondem as variáveis analisadas em cada amostra. Foram utilizadas como variáveis as propriedades químicas dos extratos de geoprópolis (CFT, FT, DPPH, PR, BCAL e CLAE) e os valores de número e comprimento de onda associado as máximas absorbâncias das bandas observadas nos espectros da geoprópolis bruta e do extrato etanólico obtidos por MIR.

A ACP foi utilizada a fim de reduzir as dimensões das variáveis originais sem perda de informação, sendo que seu principal objetivo é reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados, preservando o máximo de informação. O número de componentes principais foi escolhido utilizando o critério da avaliação da variância cumulativa, onde foram escolhidos os primeiros componentes apresentados, que acumulam percentual de variância superior a 70% e um Eigenvalue (avalia a contribuição do fator ao modelo construído pela análise fatorial) maior que um, pois se a explicação da variância pelo fator for alta, significa uma alta explicação desse fator ao modelo e, se for baixa, existe uma baixa explicação do fator ao modelo (LOPES, 2022; LIMA,2020).

3.2. Análise de Agrupamento - AG

A análise de Agrupamento (AG) foi desenvolvida de acordo a técnica descrita por Banerjee, K., Krishnan, P., Das, B. (2020), que consiste na formação de aglomerados de amostras com maior homogeneidade entre eles. Para se proceder o agrupamento, adota-se medidas de dissimilaridade, onde quanto menor for seus valores, maior será a similaridade entre os elementos que foram

comparados. O processo foi realizado usando o método de agrupamento Ward. Para a determinação do número de grupos em cada método utilizou-se como referência o valor de R^2 , onde valores baixos desse parâmetro indicam perdas de similaridade intragrupos e de Pseudo F. Se o valor de Pseudo F for alto em relação aos demais, os dois clusters considerados não devem ser combinados, pois o vetor médio desses dois clusters pode ser considerado diferente.

Para o desenvolvimento da análise de agrupamento, obtém-se uma matriz inicial de dados, sendo ela uma matriz simétrica de similaridades $m \times n$ (linhas x colunas), onde m representa a quantidade de amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão e n representa as variáveis independentes que serão analisadas em cada amostra, como os dados de capacidade antioxidante, CLAE e MIR que apresenta como variáveis independentes as absorbâncias associadas aos modos vibracionais responsáveis pelas principais bandas dos espectros.

3.3. Regressão por Mínimos Quadrados Parciais - RMQP

A análise de regressão por mínimos quadrados parciais (RMQP) relaciona a matriz X (composta por variáveis de processo x) com a matriz Y (composta por variáveis de produto y), permitindo a análise de dados com fortes correlações, níveis de ruído ou desequilíbrio entre variáveis e observações. Essa análise gera um conjunto de parâmetros que fornecem informações sobre a estrutura e o comportamento de X e Y , confirmando sua ampla aplicação no processo de seleção de variáveis (LIMA et al., 2022). As matrizes contendo os dados fornecidos pelos espectros, denominados X , e o vetor Y contendo o conteúdo a ser predito foram empregados para construir o modelo de regressão. A regressão do RMQP foi realizada após identificação e retirada dos *outliers*.

O algoritmo RMQP foi usado para prever, simultaneamente, cinco variáveis preditivas (constituintes fenólicas totais; flavonóides totais; capacidade antioxidante de DPPH, poder redutor de íons de ferro e porcentagem de co-proteção de oxidação do β -caroteno/sistema de ácido linoleico) a partir dos dados de espectroscopia MIR. O conjunto de dados original foi padronizado e dividido em dois subconjuntos de dados usando o algoritmo Kennard-Stone (KENNARD & STONE, 1969): i) a calibração definida com 70% das amostras, a partir da qual foram estabelecidas as funções de regressão; e (ii) o conjunto de validação com 30% das amostras restantes, que foram utilizadas para verificar a capacidade de generalização das funções geradas pela calibração. Parra essa separação, utilizou-se o algoritmo de Kennard-Stone, com o auxílio do programa *Chemoface - Multivariate Calibration*.

A seleção do número de variáveis latentes nos modelos foi de acordo com o método proposto pelo próprio software, utilizando o teste de T^2 para determinar se dois valores de PRESS eram significativamente diferentes. Não havendo diferença significativa, foram escolhidos os modelos com

o menor número de fatores estimados e que fornecem uma boa explicação do comportamento da variável resposta. Após a seleção do número de variáveis latentes, o modelo RMQP gerado foi usado para prever as variáveis preditivas no conjunto de dados de validação (LIMA et al., 2022).

3.3.1 Pré processamento dos dados espectroscópicos

O conjunto de dados obtidos pela espectroscopia de infravermelho médio (MIR) foi processado individualmente com cada dado de composição química analisado. Os modelos de predição do RMQP para cada variável foram construídos e os resultados individuais foram comparados para cada conjunto de dados espectrais. Os dados foram pré-processados no programa *Chemoface* versão 1.63 para corrigir qualquer possível falta de homogeneidade óptica devido ao tamanho das partículas (NUNES et al., 2012). Para a análise de regressão por mínimos quadrados parciais foram utilizados dados espectrais com e sem métodos matemáticos de pré-processamento de dados (Nenhum, Variado Normal Padrão - SNV, Correção de Espalhamento Multiplicativo - MSC).

Mishra et al. (2021) afirma que as técnicas de pré-processamento de dados são importantes durante a avaliação dos resultados, porque limpam e homogeneizam os dados antes das análises. Ao pré-processar os dados espectrais, as etapas de suavização, correção de dispersão e normalização ou diferenciação podem estar envolvidas. Nesse estudo foram utilizadas duas técnicas para tratamento dos dados espectrais, a Correção de Espalhamento Multiplicativo (MSC), que ameniza os efeitos do espalhamento de luz e a Variações Normais Padrão (SNV), que visa reduzir os desvios não lineares da linha de base (DE JESUS et al., 2020; SILVA et al., 2021).

IV RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 Constituintes fenólicos e flavonoides totais e capacidade antioxidante

Na Tabela 3 estão apresentados os teores de constituintes fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) proteção da co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico (BCAL), atividade antioxidante por DPPH e poder redutor (PR) e suas respectivas médias e desvios-padrão.

Tabela 3 - Teores de constituintes fenólicos totais, flavonoides totais e potencial antioxidante de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.

AMOSTRA	Localidade	Estação do Ano	Espécie de abelha	CFT (mg ácido gálico. g ⁻¹ de amostra)	FT (mg catequina. g ⁻¹ de amostra)	DPPH (CE ₅₀ mg. mL ⁻¹ do extrato)	BCAL (% de proteção do extrato)	PR (CE ₅₀ mg. mL ⁻¹ do extrato)
B1	Araçás	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	1,0843	1,0849	5,2657	32,4885	0,8899
B2	Sauípe	Outono	<i>Melipona scutellaris</i>	5,5932	3,7915	0,6285	50,4566	0,9617
B3	Sauípe	Outono	<i>Melipona scutellaris</i>	5,0418	2,6031	0,6890	49,3644	1,5644
B4	Araçás	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	20,2592	13,0203	1,4813	19,2446	0,9720
B5	Jussari	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	2,0018	1,1585	1,7913	12,0623	0,8398
B6	Araçás	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	1,5664	1,0156	1,3759	18,9338	0,7897
B7	Sauípe	Primavera	<i>Melipona scutellaris</i>	30,5410	8,8766	0,5221	59,0226	1,4911
B8	Sauípe	Primavera	<i>Melipona scutellaris</i>	14,2651	6,9634	0,6320	34,6154	2,1954
B9	Sauípe	Verão	<i>Melipona scutellaris</i>	17,5213	7,4842	0,6308	19,4915	1,4407
B10	Sauípe	Verão	<i>Melipona scutellaris</i>	20,4481	8,0974	0,6665	35,4478	1,8310
B11	Sauípe	Outono	<i>Melipona scutellaris</i>	11,4598	6,5012	0,9200	23,9130	1,2722
B12	Sauípe	Verão	<i>Melipona scutellaris</i>	12,3567	8,0577	0,8027	42,6471	1,0850
B13	Ilhéus	Outono	<i>Melipona scutellaris</i>	1,6242	2,9398	0,6474	15,1007	0,9131
B14	Ilhéus	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	3,0989	2,3144	0,8923	19,6319	1,0370
B15	Ilhéus	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	1,4117	1,0699	1,8233	11,4379	1,0143
B16	Ilhéus	Verão	<i>Melipona scutellaris</i>	6,3782	3,2420	0,8402	27,5000	1,0143
B17	Ilhéus	Outono	<i>Melipona scutellaris</i>	0,8848	1,4127	4,6170	24,6114	0,8620
B18	Ilhéus	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	0,3981	1,8401	8,3547	29,8913	0,8641
B19	Sauípe	Outono	<i>Melipona scutellaris</i>	5,6127	2,5151	0,9921	42,7778	0,2086
B20	Sauípe	Primavera	<i>Melipona scutellaris</i>	8,7463	4,5094	0,9432	39,9485	0,1836
B21	Sauípe	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	8,5312	3,3204	0,8369	23,0000	0,2016
B22	Sauípe	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	0,7132	3,6175	12,2521	20,1571	0,8931
B23	Sauípe	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	0,4182	2,2779	8,0488	23,6111	0,9796
B24	Sauípe	Primavera	<i>Melipona scutellaris</i>	12,9953	8,1941	0,4058	27,6498	0,0405
B25	Vitória da Conquista	Primavera	<i>Melipona scutellaris</i>	0,4767	1,7423	6,3048	34,3621	0,7255

B26	Vitória da Conquista	Primavera	<i>Melipona quadrifasciata</i>	16,3478	3,3936	0,5300	29,8507	0,1772
B27	Ilhéus	Inverno	<i>Melipona scutellaris</i>	12,5062	3,3010	0,5298	32,6667	0,2317
B28	Ilhéus	Primavera	<i>Melipona scutellaris</i>	9,1501	2,6843	1,1084	36,0759	0,4716
B29	Ilhéus	Primavera	<i>Melipona scutellaris</i>	5,7974	3,5149	1,1866	37,3188	0,3814
B30	Ilhéus	Primavera	<i>Melipona scutellaris</i>	0,2203	0,6709	7,3594	35,0000	0,2389
B31	Mucugê	Primavera	<i>Melipona scutellaris</i>	5,7376	8,7351	0,3192	25,0000	0,1085
B32	Mucugê	Primavera	<i>Melipona quadrifasciata</i>	28,7336	2,4642	0,3116	33,8569	0,0010
B33	Mucugê	Primavera	<i>Plebeia droryana</i>	37,2948	5,0379	0,3274	51,1450	0,0045
B34	Mucugê	Primavera	<i>Tetragonisca angustula</i>	4,0984	4,4323	1,4501	69,5205	0,5872
B35	Mucugê	Primavera	<i>Scaptotrigona postica</i>	0,8923	1,6257	10,9438	38,5827	0,8780

Fonte: Autor

As amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia apresentaram teores de constituintes fenólicos e flavonoides que variaram expressivamente quando comparadas as amostras individualmente. Os constituintes fenólicos totais das amostras do presente estudo apresentou um teor médio considerável de 8,98 mg. g⁻¹ de amostra, variando de 0,22 a 37,29 mg. g⁻¹. Dentre as amostras analisadas individualmente, três delas apresentaram os maiores teores de constituintes fenólicos (B7, B9, B10) e foram coletadas na cidade de Sauípe, enquanto as seis amostras que apresentaram os menores teores de constituintes fenólicos, foram coletadas na cidade de Ilhéus, no outono e inverno dos anos de 2020 e 2021, corroborando com a literatura, onde espera-se um menor teor de compostos bioativos nessas respectivas estações (CALEGARI, 2017).

O conteúdo médio de compostos flavonoides das geoprópolis analisadas foi de 4,10 mg. g⁻¹ de amostra, variando de 0,67 a 13,02 mg. g⁻¹. As amostras que expressaram, individualmente, os maiores teores de compostos flavonoides, foram produzidas na cidade de Sauípe, na primavera e no verão de 2020 e 2021, enquanto as amostras com os menores teores de compostos flavonoides foram coletadas no outono dos anos de 2020 e 2021. Os resultados obtidos nessas análises indicam que há uma variação na composição química do material, sugerindo que fatores como origem geográfica e estação do ano, espécies de abelhas e condições de armazenamento atuam diretamente na variabilidade do perfil de composição e a quantidade de componentes individuais (BEHBAHANI et al., 2020).

Os compostos fenólicos e flavonoides são comumente estudados na literatura para extratos de geoprópolis de abelha sem ferrão. Ferreira et al. (2019) avaliaram o teor de compostos fenólicos de extratos de geoprópolis de *Melipona quadrifasciata*, *Melipona scutellaris* e *Tetragonisca angustula*, encontrando resultados de 37,76, 13,08 e 13,01 µg. g⁻¹, respectivamente. Turco e colaboradores (2020) avaliaram os teores de flavonoides de extratos etanólicos de geoprópolis produzidas pelas abelhas *Melipona quadrifasciata*, *Tetragonisca angustula*, *Melipona scutellaris* e *Melipona fasciculata*, obtendo os teores máximos de 26,30, 10,65, 1,84 e 13,0 mg.g⁻¹, respectivamente. Silva et al. (2016) avaliaram a composição química e potencial terapêutico do extrato hidroalcolico de geoprópolis produzidas por abelhas sem ferrão *Plebeia aff. flavocincta* no semiárido do Rio Grande do Norte e encontraram valores para CFT de 5,67 a 9,40 mg/100g de amostra e de FT 10,05 a 22,00 mg/100g de amostra. Lima (2015) analisou geoprópolis produzidas pelas espécies de abelhas sem ferrão Manduri que apresentou elevado nível de CFT (29 mg/100g de amostra), Mandaçaia e Jataí que apresentaram baixos níveis desses compostos (1,1 e 0,2% mg/100g de amostra, respectivamente) e também analisou os níveis de FT, constatando que a geoprópolis produzida da Manduri também foi a que apresentou maiores níveis (0,7 mg/100g de amostra) seguido por Mandaçaia (0,2% mg/100g

de amotra), enquanto a geoprópolis produzida pela Jataí não apresentou níveis de FT detectados pela metodologia utilizada pelo autor.

Nesse estudo, o valor médio de concentração dos extratos necessários para inibir 50% dos radicais DPPH (CE_{50}) foi de 2,47 CE_{50} mg. mL⁻¹, variando de 0,3116 a 12,2521 CE_{50} mg. mL⁻¹. Tendo em vista que essa análise mede o quanto de um radical livre pode ser inibido por um determinado composto (AMAROWICZ & PEGG, 2019), esses resultados demonstram alta a moderada atividade antioxidante primária das amostras de geoprópolis, uma vez que foram necessárias baixas concentrações de extrato para para inibir 50% dos radicais DPPH, porém ainda maiores do que os reportados por Batista (2016) e Silva (2013), com valores variando de 0,0042 a 0,500 CE_{50} mg. mL⁻¹ em extratos hidroalcoolicos de geoprópolis. Silva et al. (2020) avaliaram o extrato etanólico de geoprópolis da abelha Mandaçaia (*Melipona Mandaçaia*) do estado da Bahia coletada nos anos de 2012 e 2013 e encontraram resultados de DPPH também inferiores a esse estudo, variando de 0,0098 a 0,05785 CE_{50} mg. mL⁻¹. Santos et al. (2017) analisaram geoprópolis de *Melipona mondury* da cidade Nova Ibiá, estado da Bahia, e encontraram valores de 0,0023 a 0,0202 CE_{50} mg. mL⁻¹. Os valores encontrados nos resultados dos extratos de geoprópolis de diferentes espécies de abelhas sem ferrão e de diferentes regiões do Brasil confirmam o potencial de atividade antioxidante e que um fator determinante desses resultados é a espécie da abelha, o período de coleta, a origem geográfica do material coletado, que influenciam diretamente na variabilidade da composição química.

As análises antioxidantes de poder redutor e percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico são duas maneiras diferentes de ação antioxidante secundária. Para a análise de poder redutor foi requerida uma concentração média de 0,78 mg. mL⁻¹, variando de 0,001 a 2,20 mg. mL⁻¹ de extrato para a redução de 50% dos íons ferro presentes, demonstrando que grande parte das amostras de geoprópolis da Bahia analisadas apresentaram boa propriedade redutora do ferro, uma vez que se espera uma menor concentração de extrato necessária para a redução do ferro, pois essa análise mede a capacidade de uma amostra reduzir o Fe^{3+} para Fe^{2+} , produzindo uma cor azul intensa, atribuível à presença de redutores (antioxidantes) que promovem a conversão do complexo férrico ao complexo ferroso (DUTRA et al., 2014).

O potencial de proteção do β -caroteno das amostras analisadas variou de 11,44% a 69,52%, apresentando, em média, 32% de proteção da oxidação das moléculas de β -caroteno presentes e inibindo moderadamente as condições favoráveis à oxidação que são inseridas durante a análise, uma vez que esse método avalia a capacidade de uma determinada substância prevenir a oxidação do β -caroteno, protegendo-o dos radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico. Esses dados foram inferiores aos encontrados por Souza (2012), Silva (2015), Brodkiewicz et al. (2018) e

Souza (2013), os quais obtiveram percentuais de proteção do sistema variando de 35,74% a 87,09% para amostras de extratos hidroalcoólicos de geoprópolis de abelha sem ferrão.

Os resultados dessas análises demonstraram que as amostras de geoprópolis coletadas nas estações do ano que predominam temperaturas mais baixas (outono e inverno) apresentaram menores teores de constituintes fenólicos e flavonoides totais e menores atividades antioxidantes primárias e secundárias. Isso se explica porque a mudança na temperatura média de acordo cada estação do ano, influencia diretamente na atividade das abelhas, ou seja, quanto menor a temperatura, menor será a atividade das abelhas e, um outro fator importante, é que nessas estações há uma menor disponibilidade de material para coleta, afetando diretamente na qualidade do produto, e como resultado, diferentes atividades biológicas foram observadas (CALEGARI, 2017). De acordo com Jiang et al. (2016) a atividade das abelhas torna-se mais energética quando a temperatura ultrapassa 25°C e a umidade relativa está entre 60% e 70%.

Três métodos de análise distintos foram usados para determinar as propriedades antioxidantes da geoprópolis de abelha sem ferrão, o que permitiu obter informações sobre a atividade desses extratos durante as diferentes etapas das reações de oxidação. Os dados obtidos das análises deste estudo mostram que há heterogeneidade entre as amostras, apresentando diferentes teores de constituintes fenólicos e flavonoides, além de variabilidade na capacidade antioxidante das amostras, embora demonstrem alto potencial antioxidante por ação primária e por ação secundária pelo poder redutor do ferro e baixo potencial secundário pela proteção da co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.

2 Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada com o intuito de verificar a composição dos constituintes fenólicos individuais nas amostras de geoprópolis de abelhas sem ferrão da Bahia, onde comparou-se os extratos etanólicos dessas amostras com padrões analíticos das substâncias puras. As equações da reta, linearidade (R), faixa de concentração e comprimento de onda de cada padrão analisado estão descritos na Tabela 4. Os resultados de quantificação dos constituintes fenólicos por CLAE foram expressos em mg.100 g⁻¹ de amostra de geoprópolis.

Tabela 4 - Equações da reta, linearidade, faixa de concentração e comprimento de onda dos padrões analisados.

Padrões	Equação da reta	R	Faixa de concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Comprimento de onda (nm)	Tempo de retenção (min)
Ácido Caféico	$y = 3\text{E-}05x$	0,9995	1 - 200	270	6,0
Ácido Ferúlico	$y = 5\text{E-}06x$	0,9938	2 - 200	310	10,8
Ácido Clorogênico	$y = 1\text{E-}05x$	0,9992	2 - 200	310	4,1
Ácido Gálico	$y = 7\text{E-}06x$	0,989	0,2 - 200	270	3,1
Ácido Cumárico	$y = 7\text{E-}06x$	0,9979	0,2 - 200	310	10,0
Catequina	$y = 5\text{E-}05x$	0,9905	2 - 200	270	3,5
Kaempferol	$y = 2\text{E-}05x$	0,9976	2 - 200	270	35,7
Quercetina	$y = 4\text{E-}06x$	0,9914	10 - 200	270	27,5
Naringenina	$y = 4\text{E-}05x$	0,9904	10 - 500	310	28,2
Biochanina A	$y = 5\text{E-}05x$	0,9907	10 - 500	310	51,3
Daidzeina	$y = 3\text{E-}05x$	0,9936	10 - 500	310	23,7
Formononetina	$y = 8\text{E-}05x$	0,9417	50 - 500	310	41,8

Fonte: Autor.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados da análise de CLAE para as amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão da Bahia para cada padrão de constituinte fenólico individual analisado, além da média e desvios-padrão para cada constituinte.

Tabela 5 - Compostos fenólicos individuais (mg/100g) das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia quantificados por CLAE.

Amostra	Concentração (mg/100g de amostra)											
	Ácido Gálico	Ácido Cafeico	Ácido Clorogênico	Ácido Cumárico	Ácido Ferúlico	Catequina	Quercetina	Kaempferol	Naringenina	Biochanina A	Formononetina	Daidzeína
B1	2,1003	nd	nd	nd	nd	18,4409	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B2	116,2707	nd	1,4035	nd	0,1377	192,5191	nd	9,7104	16,5643	35,5797	nd	nd
B3	101,2468	nd	5,9087	nd	nd	175,9107	6,6825	nd	nd	20,5153	21,0228	nd
B4	738,9625	nd	213,7349	4,1621	nd	nd	nd	nd	27,5865	49,3277	nd	10,9884
B5	9,1984	nd	10,4620	nd	10,9201	96,8328	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B6	11,3483	nd	3,1738	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B7	1916,4348	nd	344,9957	nd	922,4788	11394,4704	88,0590	2032,1843	1012,2111	159,6259	801,9555	382,6021
B8	4,2758	nd	1,0840	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B9	2,2331	nd	1,4671	nd	nd	12,9241	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B10	6,0000	nd	0,5053	nd	nd	16,5828	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B11	5,0563	nd	1,3201	nd	nd	15,3825	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B12	16,5986	nd	2,1821	nd	2,7431	60,4173	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B13	0,5764	nd	0,2539	nd	nd	2,5892	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B14	2,2501	nd	0,3172	nd	nd	9,5691	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B15	1,2810	nd	0,6918	nd	6,8316	4,7113	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B16	2,7724	nd	0,1986	nd	nd	9,6696	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B17	0,3411	nd	0,0883	nd	nd	0,8261	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B18	0,2511	nd	0,0718	nd	nd	0,7375	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B19	2,8779	nd	nd	nd	nd	16,5032	nd	16,9534	nd	nd	nd	nd
B20	2,1627	nd	0,9709	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B21	7,9764	nd	2,0617	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B22	0,3961	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B23	0,2769	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B24	15,8064	nd	2,1020	nd	nd	69,0004	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B25	0,0759	nd	0,2365	nd	0,0610	2,2604	nd	nd	nd	nd	nd	nd

B26	38,0865	nd	5,6638	nd	3,8286	128,2079	nd	16,6035	1,3659	nd	17,1735	0,7052
B27	32,0441	nd	4,7485	nd	nd	232,4809	nd	0,7907	nd	30,1291	195,1947	nd
B28	1,4597	nd	4,6525	nd	nd	9,2325	nd	nd	nd	64,1532	nd	nd
B29	2,0599	nd	0,6828	nd	nd	11,4767	nd	nd	nd	44,2330	nd	nd
B30	0,2979	nd	0,1294	nd	nd	0,2376	nd	0,3126	nd	nd	nd	nd
B31	40,8667	nd	1,5295	nd	nd	89,0451	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B32	153,0400	nd	18,1178	138,7170	nd	746,4288	26,5131	nd	616,2455	129,2962	1841,9906	203,6104
B33	233,4420	nd	28,5418	121,8650	nd	897,7963	43,9946	232,1696	169,1304	nd	1367,1792	111,1706
B34	5,2234	nd	nd	0,6341	nd	21,1740	nd	nd	nd	nd	231,2181	nd
B35	1,5518	nd	nd	nd	nd	8,9605	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd: não detectado

A Geoprópolis é uma mistura complexa de substâncias químicas e a análise da composição fenólica desse estudo revelou um total de onze compostos fenólicos nas amostras analisadas (Tabela 5), principalmente ácidos fenólicos e flavonoides, dentre os doze compostos investigados. De forma geral, entre os padrões analisados que predominaram em uma maior quantidade de amostras, a concentração de ácidos fenólicos foi maior em relação a concentração dos constituintes flavonoides, corroborando com as análises individuais desses compostos, apresentadas na Tabela 4, onde o teor de constituintes fenólicos foi maior. Considerando os compostos identificados, mas não relatados na literatura para a matriz de geoprópolis até o momento da realização deste estudo, tem-se: Biochanina A, Formononetina e Daidzeína que foram identificadas em algumas amostras de geoprópolis da Bahia analisadas no presente estudo.

Compostos como ácido gálico, ácido p-cumárico, ácido cafeico, kaempferol, naringenina, catequina e quercetina foram identificados na matriz de geoprópolis de diferentes espécies e relatados na literatura anteriormente (BATISTA et al., 2016; CARDOZO et al., 2015; DUTRA et al., 2014). Batista et al. (2021) avaliaram a composição química de extratos hidroetanólicos de geoprópolis produzida pela abelha *Melipona subnitida* do estado do Rio Grande do Norte, onde detectaram vinte e nove compostos fenólicos diferentes e, dentre eles, a quercetina, o kaempferol e a naringenina foram identificados. Dutra et al. (2019) ao analisar extratos de geoprópolis produzida por *Melipona fasciculata* identificaram e quantificaram altas concentrações de ácido gálico e elágico, corroborando com Abreu (2016) que identificou trinta compostos das classes dos ácidos fenólicos e flavonoides em geoprópolis produzidas pela mesma espécie de abelhas, predominando o ácido gálico e quercetina em todos os extratos testados.

Bonamigo et al. (2017) determinaram os constituintes químicos de extratos etanólicos de própolis obtidos da abelha sem ferrão *Melipona quadrifasciata anthidioides* e identificaram dez compostos, dentre eles o ácido cafeico, quercetina e ácido cumárico. Santos et al. (2017) investigaram a composição química da geoprópolis de *Melipona quadrifasciata anthidioides* e identificaram a presença do flavonóide naringenina no extrato hidroetanólico. Santos et al. (2017) determinar a composição química da geoprópolis de *Melipona orbigny* e identificaram quatro compostos, dentre eles a naringenina.

Apenas o ácido gálico foi detectado em todas as amostras de geoprópolis, pois é o constituinte básico dos taninos hidrolisáveis, do qual são liberados por hidrólise ácida, sendo ele o principal composto relatado na geoprópolis do gênero *Melipona* no Brasil e, portanto, considerado o biomarcador da geoprópolis de abelha sem ferrão (DUTRA et al., 2019). A presença desse composto também é justificada por ele ser um fenol de ocorrência natural nas plantas, consistindo em uma estrutura fenólica trihidroxilada que possui várias atividades farmacológicas (SARJIT et al., 2015).

O ácido gálico e seus derivados foram identificados em geoprópolis de abelhas sem ferrão nos estados brasileiros da Bahia (COSTA et al., 2017), Maranhão (DUTRA et al., 2014; DUTRA et al., 2019; Batista et al., 2016), Pernambuco, Paraná, São Paulo (VELIKOVA et al., 2000), Piauí (BANKOVA et al., 1998) e Tocantins (ARAÚJO et al., 2016).

O ácido clorogênico e a catequina foram compostos identificados em grande parte das amostras. Analisando individualmente as amostras, é possível constatar que o ácido clorogênico não foi encontrado nas amostras produzidas por *Scaptotrigona postica* e *Tetragonisca angustula* provenientes da mesma cidade, meliponário e coletadas no mesmo dia/estação do ano, indicando, portanto, que as abelhas produtoras de geoprópolis apresentam características individuais distintas para o recolhimento da matéria prima para a fabricação da geoprópolis e, conseqüentemente, apresentam composição química diferenciada (FERREIRA, 2018). Peter et al. (2017) analisaram a geoprópolis da abelha *Tetragonisca angustula* e detectaram compostos como ácido gálico, cafeico, kaempferol e quercetina. Ferreira (2018) estudou geoprópolis de diferentes espécies de abelhas sem ferrão: *Melipona mondury*, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona scutellaris*, *Melipona seminigra* e *Tetragonisca angustula* e detectou a presença ácido clorogênico, cafeico, cumárico, ferúlico, quercetina e naringenina. A catequina foi um padrão testado nesses dois estudos, mas não foi detectada.

O ácido ferúlico foi identificado em sete amostras analisadas, sendo elas produzidas pela mesma espécie de abelha (*Melipona scutellaris*) e, dentre elas, três são provenientes de Sauípe/BA (B2, B7, B12) que foram coletadas na mesma estação de anos distintos. Esses resultados evidenciam que as variações qualitativas e quantitativas nos compostos fenólicos são influenciadas, principalmente, pela espécie de abelha que produz a geoprópolis, espécies de plantas visitadas pelas abelhas, região geográfica e fatores climáticos (GÓMEZ-CARAVACA et al., 2006). Bonamigo et al. (2017) avaliaram a composição química do extrato hidroetanólico de geoprópolis da abelha sem ferrão *Melipona quadrifasciata* (Mandaçaia) e detectaram a presença do ácido ferúlico (6,1 mg/g).

A análise por CLAE é essencial para a análise de produtos que contenham misturas complexas em sua composição, permitindo a identificação e quantificação de compostos biologicamente ativos (SAWAYA et al., 2011; RIGHI et al., 2013). Os resultados deste estudo demonstraram grande variabilidade entre as amostras em relação aos padrões analíticos analisados, sendo que esse comportamento é considerado resultado da variabilidade da composição em função de vários fatores naturais e antrópicos, como clima, flora, sazonalidade, horário de coleta, método de coleta, armazenamento, dentre outros (ANDRADE et al., 2017; MACHADO et al., 2016). E, embora algumas amostras não apresentem todos os constituintes fenólicos e flavonoides analisados, elas são compostas por um número elevado de constituintes de interesse quanto à bioatividade, demonstrando

uma alta complexidade química das amostras e que essa matriz pode ser potencialmente utilizada como fonte natural de compostos bioativos.

3 Espectroscopia de Infravermelho Médio – MIR

Os espectros de absorvâncias do MIR das amostras brutas da geoprópolis de abelha sem ferrão da Bahia estão apresentados na Figura 6. O espectro de cada amostra consiste em 14.000 pontos na região de 4000 a 600 cm^{-1} . Algumas amostras de geoprópolis demonstraram alterações nas intensidades dos espectros. Essa variação foi observada principalmente em quatro regiões: 2916, 2849, 1736 e 1467 cm^{-1} que estão destacadas na Figura 7.

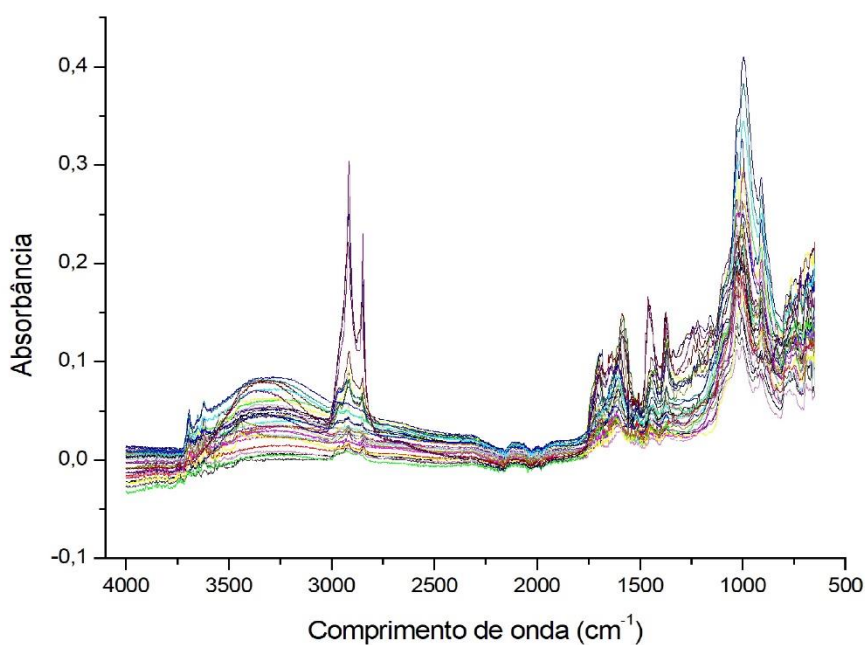


Figura 6 - Espectros de absorvâncias no MIR das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.

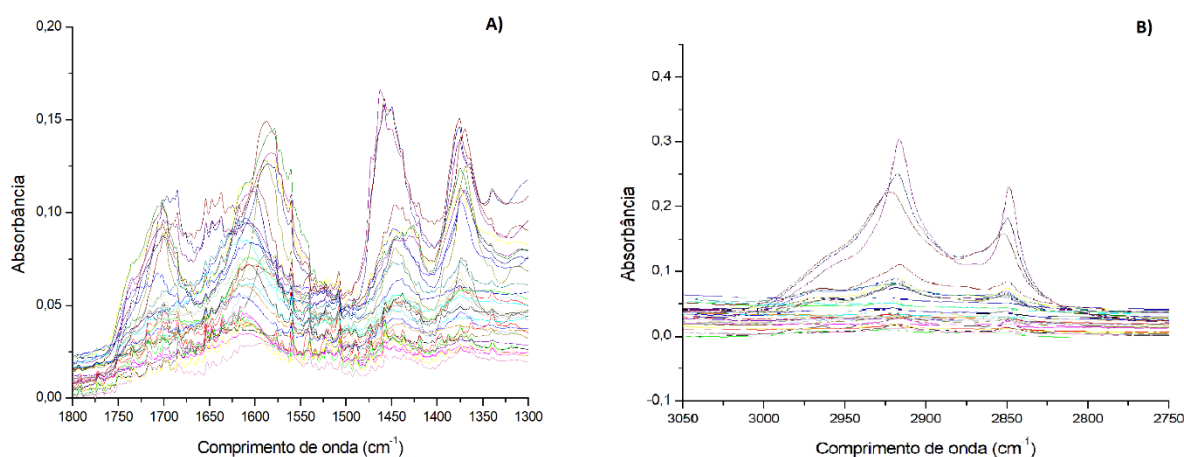


Figura 7 - Principais bandas que apresentaram alterações nas intensidades dos espectros

Os perfis espectrais de infravermelho médio foram semelhantes para todas as amostras de geoprópolis, independente da espécie de abelha, região e época de coleta. No entanto, foram observadas diferenças de intensidade em algumas bandas de absorção máximas, indicando variação de concentração nos compostos responsáveis pela absorção no MIR (Figura 7). Uma pequena variação de comportamento pode ser identificada na região entre 2000 e 2200 cm^{-1} , onde se observa a formação de pequenas bandas de absorbâncias que são referentes a vibrações de amins (WORKMAN JUNIOR, 2000). Na região entre 3590 a 3200 cm^{-1} também ocorreu formação de banda que tem sido associada a vibrações do grupo OH que é associada a água, álcoois, fenóis e compostos fenólicos como a epicatequina, catequina, quercetina, tendo como característica espectral a formação de uma banda larga (BARBOSA, 2007).

É possível observar significativas variações nas bandas referentes aos comprimentos de onda de 2916, 2849 cm^{-1} que são atribuídas aos grupos funcionais da cera de abelha (alongamento de vibrações de grupos CH), 1736 cm^{-1} (alongamento de vibrações das carbonilas de ésteres) e 1467 cm^{-1} (vibrações de hidrocarbonetos) (BARBOSA, 2007; SKOONG; HOLLER; NIEMMAN, 2009; MAZUR et al., 2019), como apresentados na Figura 8. Essas variações são explicadas devido o teor de cera presente na geoprópolis ser muito variável de acordo, principalmente, com o clima da região em que foi produzida, pois o clima chuvoso favorece a coleta do material resinoso das plantas (BARTH & LUZ, 2003), o que pode ser observado nas amostras que apresentaram os maiores picos, pois foram coletadas na mesma cidade (Mucugê), dia e meliponário, onde predominava um maior índice pluviométrico.

As bandas que compreendem os comprimentos de onda de 1760 a 1690 cm^{-1} corresponde ao grupo C=O que são relacionadas a vibrações de aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e ésteres e

ainda esses mesmos compostos absorvem energia vibracional de 1300 a 1050 cm^{-1} devido aos grupos de C-O. As bandas observadas entre 1300 a 1050 cm^{-1} são características dos álcool e éster, derivam da vibração de deformação axial de O-H e de COO ou C-O-C que estão associadas aos compostos fenólicos e flavonoides, incluindo os taninos (BARBOSA, 2007; SKOONG, HOLLER, NIEMMAN, 2009).

A região de 1600 a 1500 cm^{-1} absorve energia das ligações de C=C de anéis aromáticos que também são responsáveis por vibrações fortes de 900 a 600 cm^{-1} , variando as bandas de acordo com a quantidade e a conformação das substituições dos benzenos. A presença dessas bandas de absorbância é associada, principalmente, a ligações presentes nos compostos antioxidantes, como insaturações e presença de anéis aromáticos em ácidos fenólicos e flavonoides (BARBOSA, 2007; CÖMERT; GÖKMEN, 2018; SKOOG et al., 2017).

Diante do exposto, constata-se que é possível identificar a qualidade da geoprópolis de abelha sem ferrão através do MIR, levando em consideração sua composição antioxidante e conteúdo de flavonoide e fenólicos totais, uma vez que essa análise possibilitou a identificação de vários grupos funcionais que são característicos desses compostos bioativos da geoprópolis de abelha sem ferrão.

4 Análises Quimiométricas

A fim de classificar as amostras de geoprópolis da Bahia de acordo com o potencial antioxidante, realizaram-se análises estatísticas multivariadas.

4.1. Análise de Componentes Principais

Dois componentes principais (CP1 e CP2) explicaram 95,39% da variância total no conjunto de dados de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante. A variável correspondente a análise de poder redutor foi descartada porque apresentou baixa correlação com os componentes principais que explicaram a maior quantidade de variância e também porque apresentou correlação semelhante com mais de um componente principal. A Figura 8 apresenta o gráfico de dispersão dos Componentes Principais (CP) das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão de diferentes regiões do estado da Bahia de acordo com os dados da capacidade antioxidante e constituintes fenólicos.

A CP 1 explica 67,60% da variabilidade dos dados, correlacionando-se positivamente com os fenólicos totais, flavonoides, beta caroteno e negativamente com o CE_{50} da redução do DPPH (Figura 8A). Portanto, quanto maior o valor de uma amostra para CP1, maior será seu conteúdo de constituintes fenólicos e menor será o seu valor para o CE_{50} da redução do DPPH, o que é desejado para a maior qualidade das amostras. A CP2 explica 27,79% da variabilidade dos dados, correlacionando-se negativamente com percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico,

indicando que quanto menor o valor de CP2, maior a proteção da amostra com o sistema β -caroteno/ácido linoleico.

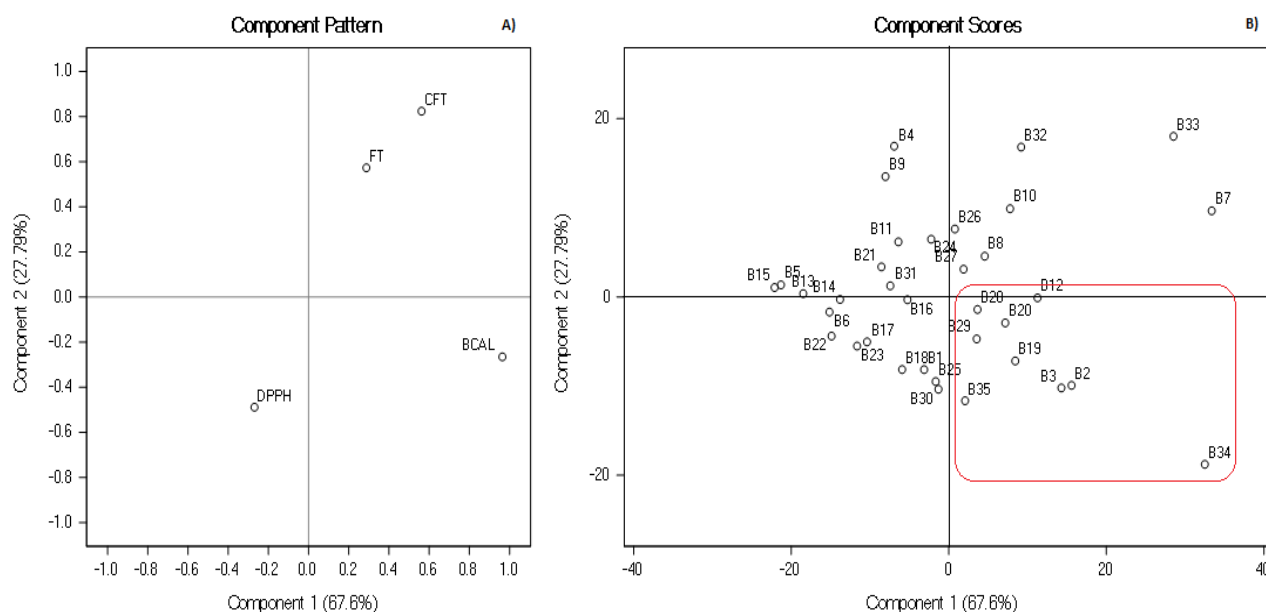


Figura 8 - Dispersão dos Componentes Principais 1 e 2 das variáveis (A) e das amostras (B) de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados de atividade antioxidante e constituintes fenólicos.

De acordo com a Figura 8B as amostras que apresentam maior teor de fenólicos e flavonoides totais e maior potencial antioxidante são as que apontam valores de escores positivos para CP1 e negativos para CP2 e estas estão localizadas no quadrante inferior direito, em destaque. As amostras B2, B3, B12, B19, B20, B28, B29, B34, B35 que estão localizadas nesse quadrante e, levando em consideração as análises realizadas, elas são as que apresentaram altos teores de constituintes fenólicos, moderados de flavonoides e alta capacidade antioxidante primária e secundária. Essas amostras foram coletadas em estações e anos diferentes e a maioria delas foram produzidas na cidade Sauípe, porém todas essas amostras foram produzidas pela mesma espécie de abelha, a *Melipona scutellaris*.

As amostras localizadas no quadrante superior direito apresentam alto teor de constituintes fenólicos, flavonoides totais e baixo CE_{50} de DPPH, porém desempenharam baixa proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico. Analisando as amostras localizadas no quadrante superior esquerdo, constata-se que elas apresentam menor atividade antioxidante dentre as demais, devido apresentarem baixo teor de constituintes fenólicos e flavonoides, alto CE_{50} de redução do DPPH e baixo percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico. Todas essas amostras foram coletadas em diferentes períodos nas cidades de Ilhéus e Mucugê, ambas localizadas no litoral baiano,

com o bioma predominante Mata Atlântica e a vegetação de floresta tropical úmida, evidenciando a influência do clima e a vegetação na composição da geoprópolis, uma vez que a temperatura pode influenciar na produção dos metabólitos secundários das plantas em função de variáveis ambientais, como ataque de microrganismos, temperatura e Radiação Uv. Resinas, botões florais e exsudatos resinosos são fontes para a produção de geoprópolis e uma variação na composição química desses materiais impacta significativamente na composição da geoprópolis (CALEGARI et al., 2017)

As amostras situadas no quadrante inferior esquerdo, embora possuam maior CE_{50} de DPPH, menor teor de constituintes fenólicos e flavonoides totais entre as amostras, apresentam alto percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico. Grande parte dessas amostras apresentaram baixo teor de fenólicos e flavonoides totais, indicando que o menor teor de constituintes fenólicos não influencia no potencial de proteção da co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico e na estabilização de radicais livres oxidantes (DPPH), sendo que o mais importante é a composição de fenólicos nessa matriz, ou seja, o tipo de compostos presentes. Essa constatação é importante devido ser um indicativo de bioatividade da geoprópolis de abelha sem ferrão, principalmente por ação antioxidante (AMAROWICZ & PEGG, 2019).

Na Figura 9 está apresentado o gráfico de dispersão dos componentes principais (CPs) das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão de diferentes regiões do estado da Bahia de acordo com todos os compostos quantificados por CLAE. Os dois CPs explicaram 100% da variância total no conjunto de dados. A CP1 foi responsável por 99,99% da variabilidade dos dados e se correlaciona positivamente com os teores de todos os compostos analisados, exceto com o ácido ferúlico (Figura 9A). Já a CP2 representou 0,01% da variabilidade dos dados e se correlaciona positivamente com todos os compostos analisados, exceto com o ácido cumárico.

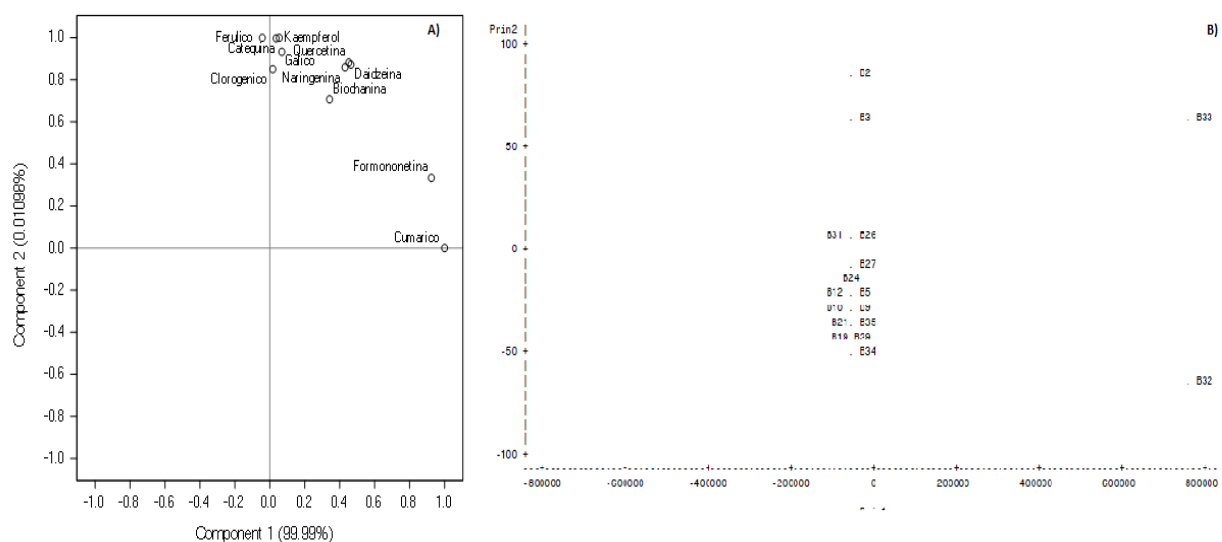


Figura 9 - Dispersão dos Componentes Principais 1 e 2 das variáveis (A) e das amostras (B) de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados quantificados por CLAE.

Os grupos formados pela dispersão das amostras estão apresentados na Figura 9B. As amostras B32 e B33 estão separadas das demais porque apresentaram as maiores concentrações de todos os compostos analisados, enquanto o ácido ferúlico não foi detectado e é uma variável correlacionada negativamente com CP1, por isso essas amostras apresentaram alta correlação com a CP1. Essas duas amostras também se destacaram na espectroscopia de infravermelho, onde apresentaram uma grande variação espectral quando comparadas com as demais. Em relação a atividade antioxidante, elas apresentaram a maior atividade antioxidante primária e secundária e maior teor de constituintes fenólicos.

Considerando apenas os três compostos quantificados por CLAE que se destacaram por estarem presentes em quase todas as amostras, ácido gálico, cafeico e catequina, considerados os principais biomarcadores desde estudo, realizou-se uma outra análise de componentes principais. Inicialmente a amostra B7 foi detectada como um outliers, porque apresentou-se muito diferente das demais, sendo removida e uma nova análise foi realizada. O gráfico de dispersão dos componentes principais (CPs) das amostras de geoprópolis de diferentes regiões do estado da Bahia de acordo com os compostos ácido gálico, cafeico e catequina quantificados por CLAE, estão apresentados na Figura 10. Os dois CPs explicaram 99,91% da variância total no conjunto de dados. A CP1 foi responsável por 71,74% da variabilidade dos dados e se correlaciona positivamente com os três compostos analisados. Já a CP2 representou 28,21% da variabilidade dos dados e se correlaciona positivamente com os compostos ácido gálico e clorogênico e negativamente com a catequina (Figura 10A).

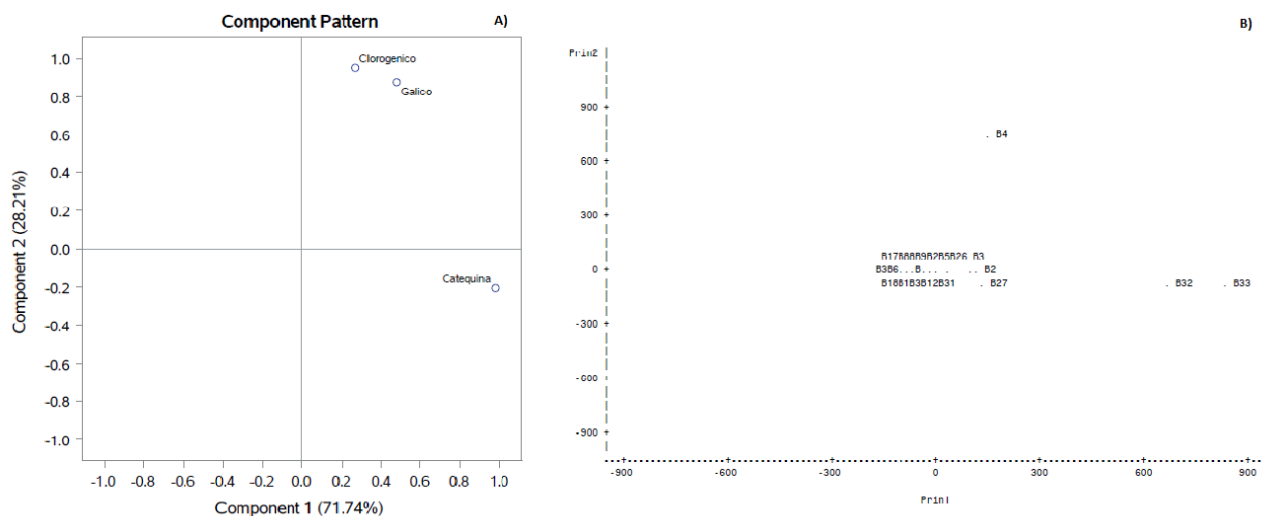


Figura 10 - Dispersão dos Componentes Principais 1 e 2 das variáveis (A) e das amostras (B) de geoprópolis do estado da Bahia de acordo com os compostos ácido gálico, clorogênico e catequina quantificados por CLAE.

Os grupos formados pela dispersão das amostras estão apresentados na Figura 10B. A amostra B4 se separou das demais, porque apresentou altos teores de ácido gálico e clorogênico e ausência da catequina. As amostras B32 e B33 continuaram separadas das demais, porque apresentaram altas concentrações dos três compostos analisados e, assim como mencionado acima, essas amostras se destacam por apresentarem alto teor de fenólicos totais e alta atividade antioxidante primária e secundária.

A Figura 11 representa o gráfico de dispersão dos CPs das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão de diferentes regiões do estado da Bahia de acordo com os dados do MIR da amostra bruta. Para a análise de Componentes Principais com dados do MIR das amostras brutas de geoprópolis de abelha sem ferrão foram selecionadas as principais bandas do espectro, 15 no total. Todas essas bandas apresentaram alta correlação com CP1, que explicou 58,22% da variabilidade dos dados e é um descritor geral dos dados.

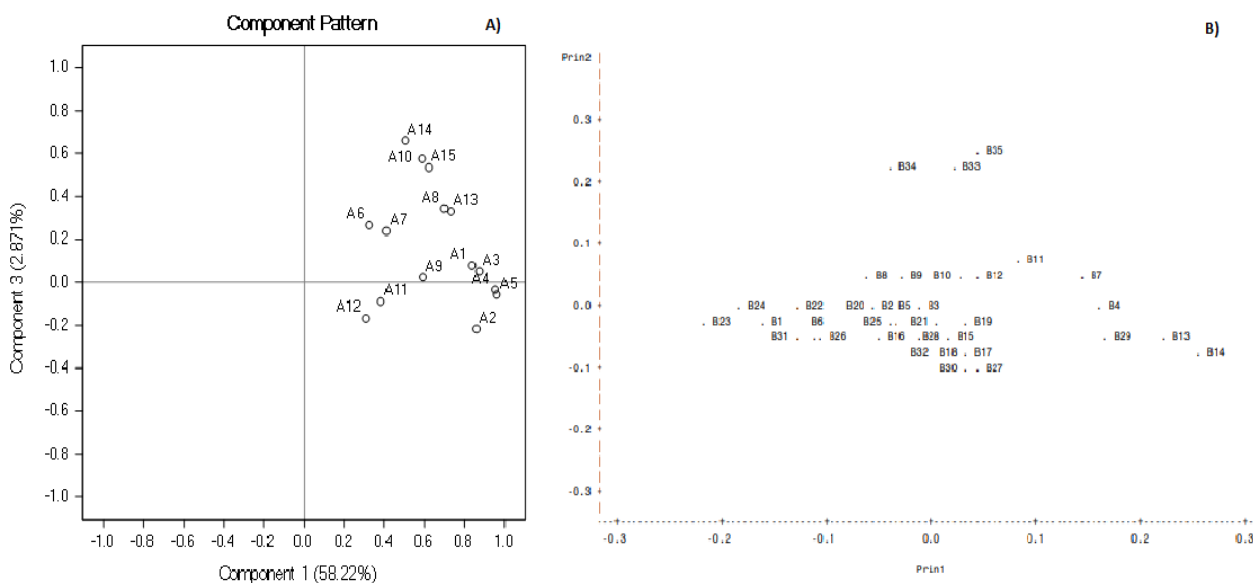


Figura 11 - Dispersão dos Componentes Principais 1 e 2 das variáveis (A) e das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados quantificados por MIR para as amostras brutas (B).

Analisando os resultados gerados com os dados do MIR das amostras brutas, a CP1 foi responsável por explicar 58,22% da variação dos dados, sendo um descritor de todas as variáveis (Figura 11A), indicando que quanto maior for o escore para CP1 de uma amostra, maior será a concentração dos grupos funcionais de aminas, água, álcoois, fenóis, compostos aromáticos contendo grupo OH, grupos funcionais atribuídos a cera de abelha, hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, anéis aromáticos e benzenos.

A CP2 é responsável pela explicação de 36,21% da variação dos dados, estando negativamente relacionada com as bandas 915,742; 1008,453; 1011,714; 2092,800; 3621,152; 3687,524; 3701,034 cm^{-1} , as quais são associadas a bandas de máximas absorbâncias de grupos funcionais de aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, anéis aromáticos e outros compostos contendo grupo OH, portanto as amostras com valores negativos para CP2 tendem a apresentar maior quantidade de compostos que possuam esses grupos funcionais, como água, álcoois, fenóis e compostos fenólicos como a epicatequina, catequina, quercetina que estão presentes na matriz de geoprópolis.

Explorando a Figura 11B, que apresenta a dispersão das amostras, é possível verificar a separação de algumas delas e, analisando as características individuais nas análises realizadas, é possível constatar que essas amostras foram as que apresentaram em sua composições os três compostos majoritários identificados por CLAE, o ácido gálico, cafeico e catequina.

4.2. Análise de Agrupamento

A Figura 12 apresenta o dendograma de agrupamento das amostras brutas de geoprópolis de abelha sem ferrão de diferentes regiões do estado da Bahia de acordo com os dados de capacidade antioxidante (Constituintes fenólicos totais, flavonoides totais, DPPH, poder redutor e sistema β -caroteno/ácido linoleico).

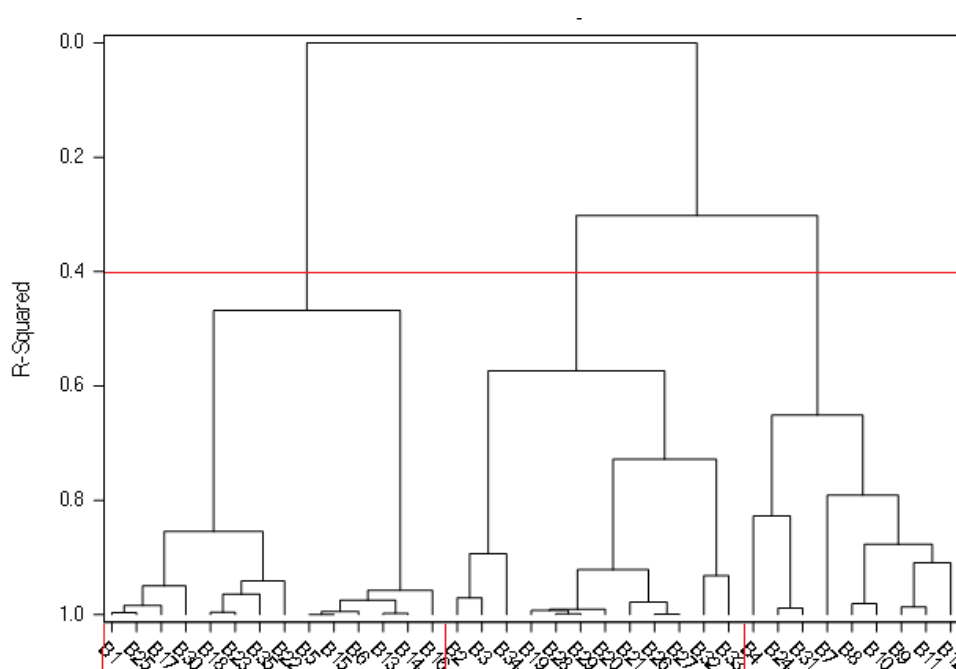


Figura 12 - Dendograma de agrupamento das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados de capacidade antioxidante.

Analisando o dendograma de agrupamento que utiliza os dados de capacidade antioxidante, pode-se observar a formação de três grupos de amostras de acordo com os valores de R^2 , Pseudo F e CCC. De acordo com os valores médios das variáveis originais, observa-se que o primeiro grupo começando pelo lado esquerdo do dendograma é composto pelas amostras que apresentaram os menores teores de constituintes fenólicos e flavonoides totais, além de possuírem menor capacidade antioxidante primária e secundária. Essas amostras foram coletadas em diferentes períodos nas cidades de Ilhéus, Mucugê e Sauípe, ambas localizadas no litoral baiano, evidenciando a influência do clima e vegetação na composição da geoprópolis, pois pode gerar variação na composição química dos vegetais, bem como na atividade das abelhas.

O segundo grupo é composto por amostras com altos teores de fenólicos totais e moderados de flavonoides, porém com alta capacidade antioxidante primária e secundária. O terceiro grupo é composto por amostras com moderados teores de constituintes fenólicos e os mais altos de constituintes flavonoides, porém com moderados teores de capacidade antioxidante primária e

secundária. A maioria dessas amostras foram coletadas nas estações primavera e verão, onde as abelhas desempenham maior atividade, uma vez que a temperatura média de acordo cada estação do ano, influencia diretamente na atividade das abelhas, ou seja, quanto maior a temperatura, maior será a atividade das abelhas, sendo que sua atividade se torna mais energética quando a temperatura ultrapassa 25°C e a umidade relativa está entre 60% e 70% (CALEGARI, 2017; JIANG et al., 2016).

Na Figura 13 está apresentado o dendograma de agrupamento das amostras brutas de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados quantificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

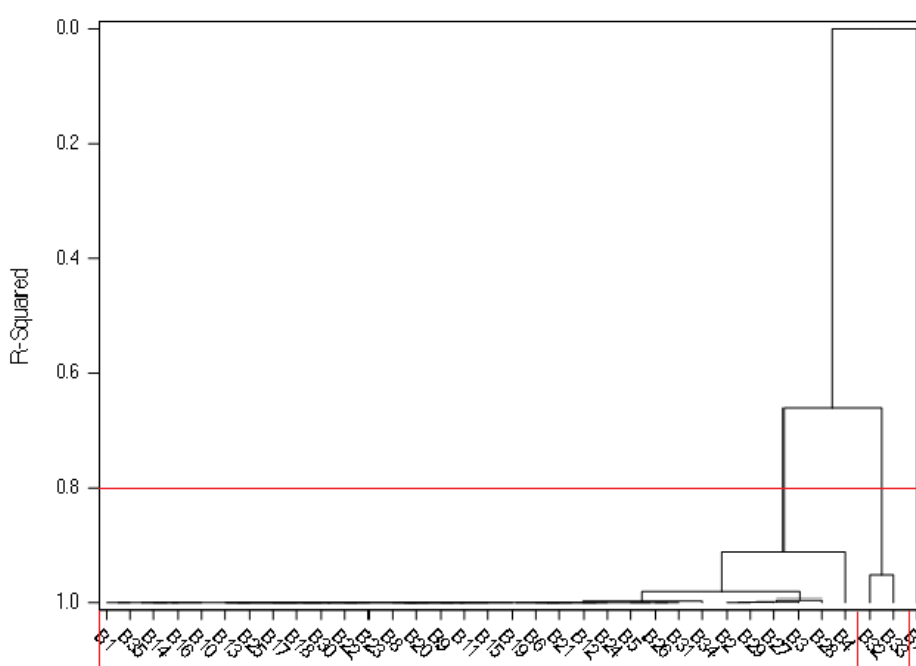


Figura 13 - Dendograma de agrupamento das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados de CLAE.

Analisando o dendograma de agrupamento com os dados de análise cromatográfica sobre composição dos fenólicos individuais pode-se observar a formação de 3 grupos, de acordo com os valores de R^2 e Pseudo F.

O primeiro grupo começando pelo lado direito é formado por uma única amostra (B7), que se destacou por apresentar as maiores concentrações de dez compostos analisados. O segundo grupo é composto também por duas amostras que se destacaram dentre as demais (B32 e B33), pois apresentaram altas concentrações de dez compostos que foram analisados. O terceiro grupo é composto pelas demais amostras analisadas que, embora não tenham apresentado as maiores concentrações de nenhum padrão específico, se destacaram com valores altos para a maioria dos constituintes fenólicos individuais testados.

Desse modo, a partir dos dados de agrupamento e considerando as concentrações e quantidade de compostos individuais detectados, é possível indicar que as amostras presentes nos dois primeiros grupos são aquelas que apresentam melhor e maior composição de fenólicos individuais e as amostras presentes no terceiro grupo como as de qualidade média a inferior. No entanto, essa constatação pode ser variável, uma vez que se pode levar em consideração apenas um composto específico, por exemplo. Esses dados não corroboram com o agrupamento gerado para dados de capacidade antioxidante (Figura 12), indicando a presença de outros constituintes fenólicos não quantificados e que desempenhem papel significativo nessa atividade.

Na Figura 14 observa-se o dendograma de agrupamento das amostras brutas de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados observados por MIR com a formação de dois grupos.

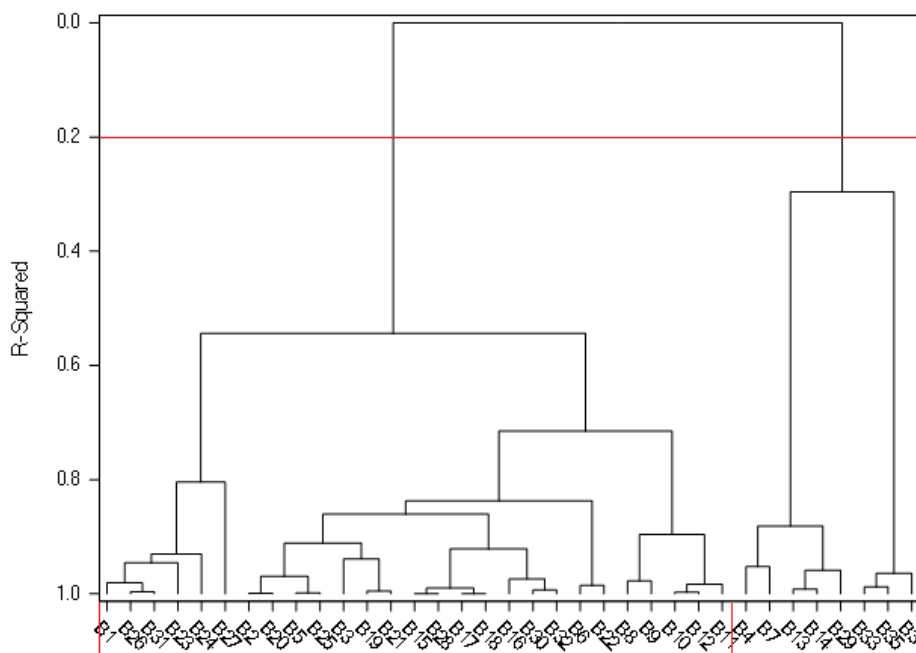


Figura 14 - Dendograma de agrupamento das amostras brutas de geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia de acordo com os dados observados por MIR.

O primeiro grupo do lado direito corresponde as amostras que apresentaram os maiores valores de absorvâncias nos comprimentos de onda 1375,570; 1430,312; 1619,228; 1670,475; 2858,947; 2926,268 cm^{-1} os quais podem ser associados aos compostos com grupos funcionais atribuídos ao alongamento de vibrações de grupos CH características de grupos alifáticos, alongamento de e vibrações de hidrocarbonetos e ligações de C=C de anéis aromáticos e ligações C=O que são característica de amidas alifáticas saturadas.

O segundo grupo se destacou por apresentar maiores absorvâncias nos comprimentos de onda associados a vibrações que absorvem energia das ligações de C=C de anéis aromáticos que também são responsáveis por vibrações fortes de 900 a 600 cm^{-1} e de 1600-1500 cm^{-1} . Também apresentaram maiores absorvâncias nos comprimentos de onda 3700 - 2000 cm^{-1} que estão associados a sobreposição de grupos hidroxila OH e NH^{3+} de aminoácidos (BARBOSA, 2007; SKOONG; HOLLER; NIEMMAN, 2009; MAZUR et al., 2019).

Analisando as características individuais das respectivas amostras que compõe cada grupo, constata-se que as amostras do primeiro grupo apresentaram em sua composição os três compostos majoritários identificados por CLAE, o ácido gálico, cafeico e catequina, nas maiores concentrações identificadas. Constata-se, portanto, que o resultado da análise de agrupamento a partir dados do MIR está mais correlacionado com os dados de constituintes fenólicos individuais obtidos por cromatografia líquida.

Os resultados apresentados acima apontam que a análise de agrupamento é uma alternativa de método triagem de capacidade antioxidante da geoprópolis, possibilitando uma conclusão classificatória a respeito da qualidade geral, o que muitas vezes não é possível quando se avaliam individualmente os resultados analíticos. De modo geral, as análises acima mostraram-se eficientes na separação e classificação das amostras de geoprópolis de acordo a capacidade antioxidante e constituintes fenólicos, possibilitando observar a dispersão e heterogeneidade entre as amostras, demonstrando diferentes perfis de composição e bioatividade. Diante disso, constata-se que essa análise é importante, pois possibilita a realização de análises complexas que não são possíveis através de análises univariadas.

4.3. Regressão por Mínimos Quadrados Parciais

A análise foi realizada com o objetivo de verificar a possibilidade de determinar a atividade antioxidante da geoprópolis de abelha sem ferrão da Bahia utilizando dados de espectroscopia no infravermelho médio. Essa análise é considerada *full-spectrum*, pois a calibração multivariada é realizada utilizando a informação do espectro inteiro para construir o modelo da regressão, e não parte da hipótese de que as variáveis não são correlacionadas e nem requer que os resíduos sigam uma distribuição normal e, devido isso, é frequentemente utilizada para predição com dados de espectroscopia no infravermelho. Para isso foram ajustados modelos com e sem métodos matemáticos de pré-processamento de dados (Nenhum, SNV, MSC). Na Tabela 6 estão apresentados os parâmetros de ajuste dos modelos otimizados com seus respectivos métodos de tratamento de dados.

Tabela 6 - Parâmetros de ajustes dos modelos preditivos de RMQP.

	Número de Fatores	Pré Processamento	Treinamento				Validação			
			R	RMSE	RPD	RER	R	RMSE	RPD	RER
CFT	7	MSC	0,95	3,24	3,16	11,45	0,90	2,65	2,33	7,55
FT	8	SNV	0,97	0,75	4,18	16,46	0,82	1,46	1,40	4,84
DPPH	6	Nenhum	0,92	1,31	2,66	9,12	0,05	4,30	0,64	1,80
BCAL	7	Nenhum	0,92	5,24	2,58	10,96	0,69	8,06	1,44	4,84
PR	3	Nenhum	0,75	0,38	1,53	5,79	0,65	0,31	1,36	5,25

Quanto menor o número de variáveis latentes significativo, maior a facilidade do modelo em prever os valores com baixo erro associado e, conseqüentemente, mais simples se torna o modelo. Alguns parâmetros são analisados para avaliar a qualidade do ajuste e a aplicabilidade dos modelos. Valores de R próximos a 1 e valores RMSE baixos indicam o bom desempenho do modelo para prever os parâmetros de atividade antioxidante.

Outro parâmetro de ajuste muito relevante para a análise é a relação entre desempenho e desvio (RPD), onde modelos com $RPD > 2$ podem ser considerados excelentes; modelos razoáveis quando $1,4 < RPD < 2$; e modelos não confiáveis quando $RPD < 1,4$ (CHANG et al., 2001). A razão entre a amplitude de concentração de um analito e o erro quadrático médio (RER) também é um parâmetro relevante, onde um modelo com valores de $RER < 3$ apresenta baixa capacidade preditiva, modelos com RER entre 3 e 10 têm utilidade prática moderada e valores de $RER > 10$ indicam boa utilidade do modelo (LIMA et al., 2022).

Considerando os parâmetros de ajuste RPD e RER, os modelos escolhidos para a predição de todas as análises podem ser considerados razoáveis e de utilidade prática moderada, com exceção do modelo ajustado para predizer o teor de constituintes fenólicos que, segundo o RPD, pode ser considerado excelente. É necessário ainda analisar quais variáveis ou regiões espectrais são mais importantes para avaliar a relevância do modelo em termos de grupos funcionais associados, o que pode ser observado graficamente na Figura 15 para os constituintes fenólicos totais.

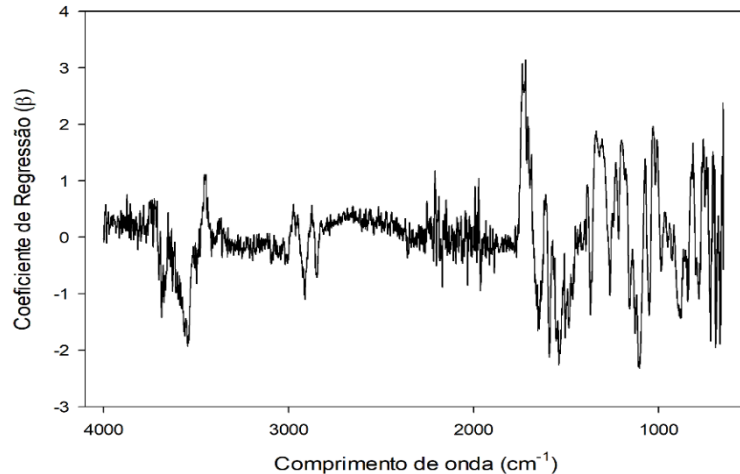


Figura 15 - Coeficientes de regressão em função do comprimento de onda do modelo RMQP construído para prever os constituintes fenólicos totais em amostras geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.

As principais bandas associadas a predição de maiores valores de constituintes fenólicos totais estão na região espectral de 600 a 1700 cm^{-1} que merece destaque, portanto amostras que apresentem maior intensidade dessas bandas, conseqüentemente, apresentarão maior qualidade. Essas bandas são associadas, principalmente, a ligações de C=C de anéis aromáticos (BARBOSA, 2007).

Os coeficientes de regressão para a predição dos flavonoides totais com dados de MIR das amostras estão apresentados na Figura 16.

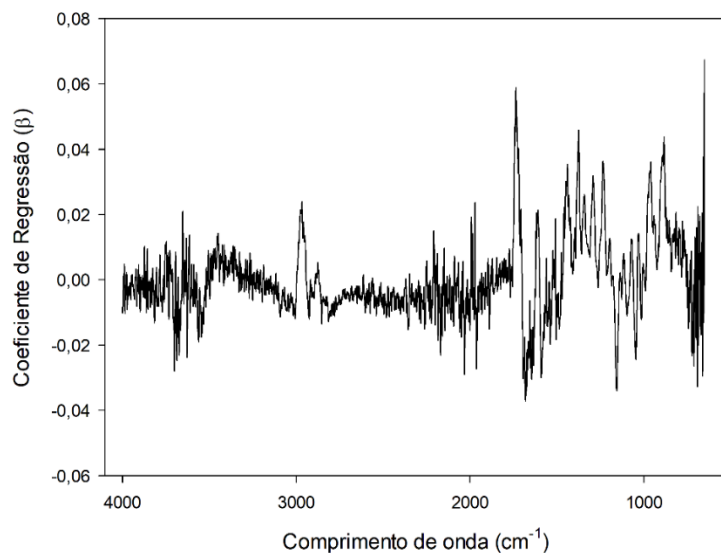


Figura 16 - Coeficientes de regressão em função do comprimento de onda do modelo RMQP construído para prever os constituintes flavonoides totais em amostras geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.

É possível observar que as principais bandas associadas a predição de maiores valores de constituintes flavonoides totais são 2900, 1670 cm^{-1} e a região de 2000 a 2300 cm^{-1} que merece destaque na predição. Essas bandas são associadas a vibração de amins, hidroxilas e carboxilas de fenóis, ácidos carboxílicos e outros compostos aromáticos, respectivamente (WORKMAN JUNIOR, 2000). A região de de 2600 a 1700 cm^{-1} também merece destaque, pois de acordo com Barbosa (2007) e Skoong, Holler & Niemman (2009), nessa região ocorrem vibrações de hidroxilas e carbonilas associadas a ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas e ésteres, que são grupos funcionais relacionados a presença de flavonoides, indicando que o modelo foi bem ajustado.

Os coeficientes de regressão para a predição do CE_{50} do DPPH com dados de MIR das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão da Bahia estão apresentados na Figura 17.

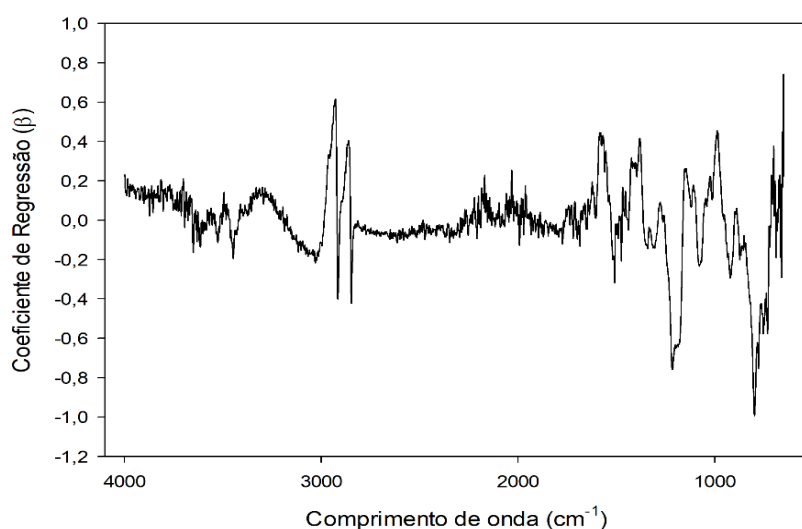


Figura 17 - Coeficientes de regressão em função do comprimento de onda do modelo RMQP construído para prever o CE_{50} do DPPH de totais em amostras geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.

É possível observar uma região espectral de maior importância na predição, com coeficientes negativos, entre 1700 e 600 cm^{-1} e é associada a absorvâncias de vibrações de ligações de C=C de anéis aromáticos. Para coeficientes com valores positivos, que podem ser relacionados a valores de CE_{50} do DPPH maiores, tem-se a banda 2850 cm^{-1} que está associada a presença de cera e resina nas amostras (SKOOG et al., 2017; BARBOSA, 2007).

Os coeficientes de regressão para a predição do percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico com dados de MIR das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão da Bahia estão apresentados na Figura 18.

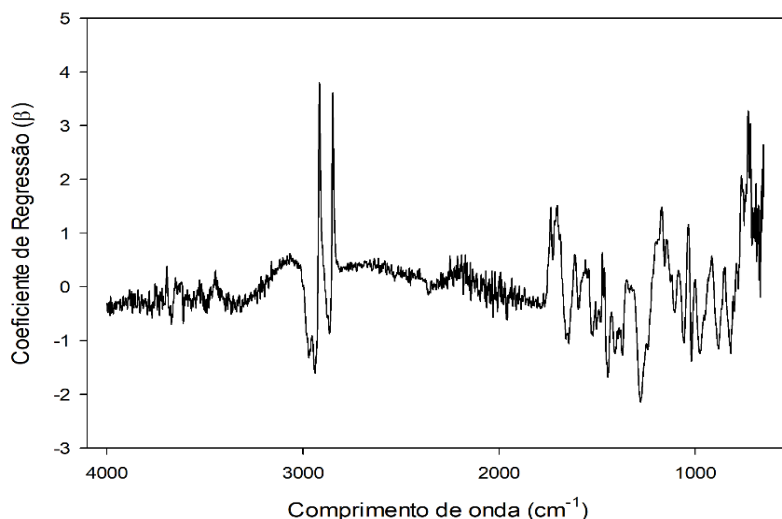


Figura 18 - Coeficientes de regressão em função do comprimento de onda do modelo RMQP construído para prever o percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico em amostras geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.

Nesta figura é possível identificar uma região espectral que apresentou os principais coeficientes de regressão na predição da proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico, sendo ela foi semelhante a identificada para a predição do CE_{50} do DPPH, porém apresentou maiores coeficientes positivos nas bandas de 2950 a 2850 cm^{-1} , as quais representam vibrações de grupos CH associados a presença de cera e resina (SKOOG et al., 2017; BARBOSA, 2007).

Os coeficientes de regressão para a predição do percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico com dados de MIR das amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão da Bahia estão apresentados na Figura 19.

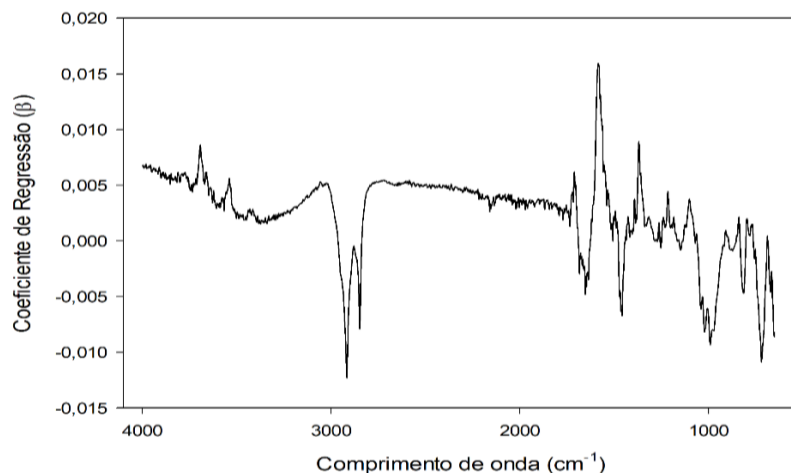


Figura 19 - Coeficientes de regressão em função do comprimento de onda do modelo RMQP construído para prever o CE_{50} do poder redutor em amostras geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia.

Analisando esses coeficientes para a predição do percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico, observa-se uma região espectral de maior importância na predição, com coeficientes negativos, estando entre 600 e 1600 cm^{-1} e é associada a absorvâncias das vibrações de ligações de $C=C$ de anéis aromáticos. Para coeficientes com valores positivos, que podem ser relacionados a valores do percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico, tem-se as bandas em 2950 , 2850 e 1770 cm^{-1} que são associadas a presença de cera e resina nas amostras (SKOOG et al., 2017; BARBOSA, 2007).

A partir das considerações acima, feitas individualmente para cada análise estudada, é possível selecionar quais são os picos com maior representatividade e que, conseqüentemente, contribuem para indicação da qualidade da geoprópolis. Levando em consideração que uma geoprópolis de qualidade deve apresentar altos teores de fenólicos e flavonoides totais e alta atividade antioxidante primária e secundária, as regiões espectrais com maior importância para detecção dessa qualidade são a presença de coeficientes positivos e/ou negativos na região espectral de 600 a 1700 cm^{-1} que são associados a ligações de $C=C$ de anéis aromáticos; região de 2000 a 2300 cm^{-1} que são associadas a vibração de amins, hidroxilas e carboxilas de fenóis, ácidos carboxílicos e outros compostos aromáticos; maiores coeficientes positivos nas bandas de 2950 a 2850 cm^{-1} , as quais representam vibrações de grupos CH .

Os resultados dessa análise demonstraram a possibilidade de calibrar dados para prever análises indicadoras de qualidade de geoprópolis de abelha sem ferrão de forma simples e rápida utilizando a técnica de espectroscopia de infravermelho médio associada a modelos de calibração multivariada, tornando-se útil devido ser uma análise rápida, precisa e que não demandam reagentes. E, uma vez o modelo já calibrado, é possível realizar a estimativa dos dados de capacidade

antioxidante dessas amostras sem que seja necessária a realização das análises químicas. Desse modo, modelos quimiométricos podem ser usados com sucesso para avaliar a qualidade de amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão.

V CONCLUSÕES

A geoprópolis de abelha sem ferrão do estado da Bahia demonstrou concentrações significativas de constituintes fenólicos e flavonoides totais, alto potencial antioxidante de ação primária e moderada por ação secundária, evidenciando que há variabilidade entre as amostras analisadas, sendo explicada pela influência da origem, época de coleta e espécie de abelha produtora. A análise de espectroscopia no infravermelho médio permitiu avaliar os grupos funcionais das amostras, indicando presença de compostos aromáticos e insaturados, característicos dos compostos antioxidantes.

Dentre as análises qualitativas, as duas admitidas neste estudo demonstraram a formação e separação de grupos de amostras de acordo a atividade antioxidante e conteúdo fenólico total, porém a Análise de Componentes Principais evidenciou ainda mais esses grupos. A análise quantitativa de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais demonstrou resultados razoáveis e de utilidade prática moderada, bem como a possibilidade de calibrar dados para prever análises indicadoras de qualidade de geoprópolis de abelha sem ferrão de forma simples e rápida, utilizando a espectroscopia de infravermelho médio associado a modelos de calibração multivariada.

Os resultados deste estudo demonstram que a geoprópolis pode ser potencialmente utilizada como fonte natural de compostos bioativos e antioxidantes e que a espécie de abelha, o local e a época de coleta, bem como a interação entre esses fatores influenciam na concentração desses compostos. Diante disso, acredita-se que os resultados obtidos contribuem significativamente para a caracterização da geoprópolis das abelhas sem ferrão proveniente do estado da Bahia. Este estudo também indica a possibilidade de uso das tecnologias de espectroscopia no infravermelho médio associada a quimiometria para prever a qualidade antioxidante de amostras de geoprópolis de abelha sem ferrão, tornando-se útil devido ser uma análise rápida, confiável e que não demanda reagentes e trabalho árduo sendo, portanto, uma alternativa de substituição de análises onerosas.

VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH, N. A.; JA'AFAR, F.; YASIN, H. M.; TAHA, H.; PETALCORIN, M. I. R.; MAMIT, M. H.; KUSRINI, E.; USMAN, A. Physicochemical analyses, antioxidant, antibacterial, and toxicity of propolis particles produced by stingless bee *Heterotrigona itama* found in Brunei Darussalam. **Heliyon**, n. 5, v. 9, 2019.
- ALDANA-MEJÍA, J. A.; CCANA-CCAPATINTA, G. V.; RIBEIRO, V. P.; ARRUDA, C.; VENEZIANI, R. C. S.; AMBRÓSIO, S. R., & BASTOS, J. K. A validated HPLC-UV method for the analysis of phenolic compounds in Brazilian red propolis and *Dalbergia ecastaphyllum*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 198, 2021.
- ALVARES, C. A., STAPE, J. L., SENTELHAS, P. C., DE MORAES GONÇALVES, J. L., & SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22 (6), p. 711–728, 2013.
- ALVES, R. M. O.; SOUZA, B. A.; SODRE, G. S.; FONSECA, A. A. O. Desumidificação: uma alternativa para a conservação do mel de abelhas sem ferrão. **Mensagem Doce**, v. 91, p. 2-8, 2007.
- AMAROWICZ R., PEGG R. B. Natural antioxidants of plant origin. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 90, p. 1–81, 2019.
- AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; WEIL, J. A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies, **Food Chemistry**, v. 84, p. 551, 2004.
- ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; DE OLIVEIRA, C. S.; NUNES, M. L.; NARAIN, N. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129–138, 2017.
- ARAÚJO, M. J. A. M. **Geoprópolis de *Melipona fasciculata* SMITH: ações citotóxicas, imunomoduladora, antibacteriana e antifúngica**. 2013. Tese de doutorado em Patologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2013.
- ARAÚJO, K. S. S.; SANTOS JÚNIOR, J. F.; SATO, M. O.; FINCO, F. D. B. A.; SOARES, I. M.; BARBOSA R. S.; ALVIM, T. C.; ASCÊNCIO, S. D.; MARIANO, S. M. B. Physicochemical properties and antioxidant capacity of propolis of stingless bees (*Meliponinae*) and *Apis* from two regions of Tocantins, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 46, p. 61-68, 2016.
- ARAÚJO, M. J. A. M.; BÚFALO, M. C.; CONTI, B. J.; TRUSHEVA, A. F.; BANKOVA, B.; SFORCIN, V. J. M. A composição química e atividades farmacológicas da geoprópolis produzida por *Melipona fasciculata* Smith no Nordeste do Brasil. **J. Molecular Pathophysiol.**, v. 4, p. 12-20, 2015.
- BALLIVIÁN, J. M. P. P. Abelhas nativas sem ferrão. **Oikos**, p. 128, 2008.
- BANERJEE, K., KRISHNAN, P., & DAS, B. Thermal imaging and multivariate techniques for characterizing and screening wheat genotypes under water stress condition. **Ecological Indicators**, 119, 2020.

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, Bulgaria, v. 100, p.114-117, 2005.

BANKOVA, V. S.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, n. 1, p. 3-15, 2000.

BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; MARCUCCI, M.C.; POPOV, S. Constituents of Brazilian geopropolis. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 53, n. 402-406, 1998.

BANKOVA, V.; POPOVA, M.; TRUSHEVA, B. Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. **Chemistry Central Journal**, v. 8, n.1, 2014.

BARBOSA, L. C. de A. **Espectroscopia no Infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. 1a Ed ed. Viçosa: Editora UFV, 2007.

BARTH, O. M. Palynological analysis of geopropolis samples obtained from six species of Meliponinae in the Campus of the Universidade de Ribeirão Preto, USP, Brazil. **Apiacta**, v. 41, n. 2, 2006.

BARTH, O. M. & LUZ, C. F. P. Palynological. analysis of Brazilian geopropolis sediments. **Grana**, v. 42, p. 121-127, 2003.

BARTOLOMEU, R.; FRIÓN-HERRERA, Y.; SILVA, L. M.; ROMAGNOLI, G. G.; OLIVEIRA, D. E.; SFORCIN, J. M. Efeitos combinatórios da geoprópolis produzida por *Melipona fasciculata* Smith com drogas anticancerígenas contra células de carcinoma epidermóide de laringe humano (HEp-2). **Biomédico. Farmacêutico**, v. 81, p. 48 - 55, 2016.

BATISTA, J. S.; SALATINO, A.; NEGRI, G.; JARA, C. E. P.; PAIVA, K. A. R.; SANTOS, W. L. A.; TEÓFILO, T. S.; FÉLIX, N. S.; SILVA, F. H. A.; RODRIGUES, V. H. V. Photoprotective activity of geopropolis produced by *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponinae) in the semiarid of the Brazilian Northeast. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e11210212305, 2021.

BATISTA, M. C. A.; ABREU, B. V. B.; DUTRA, R. P.; CUNHA, M. S.; AMARAL, F. M. M.; TORRES, L. M. B.; RIBEIRO, M. N. S. Chemical composition and antioxidant activity of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* (Meliponinae) in flooded fields and cerrado areas of Maranhão State, northeastern Brazil. **Acta Amazonica**, v. 46, n. 3, p. 315-322, 2016.

BONAMIGO, T.; CAMPOS, J. F.; ALFREDO, T. M.; BALESTIERI, J. B. P.; CARDOSO, C. A. L.; PAREDES-GAMERO, E. J.; DE PICOLI SOUZA, K.; DOS SANTOS, E. L. Antioxidant, Cytotoxic, and Toxic Activities of Propolis from Two Native Bees in Brazil: *Scaptotrigona depilis* and *Melipona quadrifasciata anthidioides*. Oxidative. **Medicine and Cellular Longevity**, 2017.

BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER M. E.; BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT: Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 23 jan 2001. Seção 1. Brasil, 2001.

BRODKIEWICZ, Y.; MARCINKEVICIUS, K.; REYNOSO, M.; SALOMON, V.; MALDONADO, L.; VERA, N. Estudos dos efeitos biológicos e terapêuticos da própolis de abelha sem ferrão da Argentina. **Therapeut**, v. 8, p. 382-392, 2018.

CAI, R.; WANG, S.; MENG, Y.; MENG, Q.; ZHAO, W. Rapid quantification of flavonoids in propolis and previous study for classification of propolis from different origins by using near infrared spectroscopy. **Analytical Methods**, v. 4, n. 8, p. 2388-2395, 2012.

CALEGARI, M. A.; PRASNIEWSKI, A. N.; SILVA, C.; SADO, R. Y.; MAIA, F. M. C.; TONIAL, L. M. S.; OLDONI, T. L. C. Propolis from Southwest of Parana produced by selected bees : Influence of seasonality and food supplementation on antioxidant activity and phenolic profile. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 1, p. 45–55, 2017.

CAMPÊLO, M. C. S.; FREIRE, D. A. C.; ABRANTES, M. R.; SOUSA, Ê. S.; SILVA, J. B. A. Potencial antimicrobiano de própolis e cera de diferentes espécies de abelhas sem ferrão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.9, n. 4, p. 397-400, 2015.

CARDOZO, D. V.; MOKOCHINSKI, J. B.; SCHNEIDER, C. M.; SAWAYA, A. C. H. F.; CAETANO, I. K.; FELSNER, M. L.; TORRES, Y. R. Variabilidade Química de Geoprópolis produzida pelas Abelhas sem Ferrão Jataí, Mandaçaia e Mandurí. **Revista Virtual Química**, v. 07, n. 6, p. 2457-2474, 2015.

CARO, H.; MOO-VALLE, R.; ALFARO, J. J. G. Quezada-euán Pollination services of Africanized honey bees and native *Melipona beecheii* to buzz-pollinated annatto (*Bixa orellana* L.) in the neotropics. **Agric. For. Entomol.**, v. 19, p. 274-280, 2016.

CHRISTIAN, G. D.; DASGUPTA, P. K. & SCHUG, K.A. **Analytical chemistry**. 7 ed. Wiley: New York, 2014.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**, v. 105, p. 76–93, 2018.

CORDEIRO H. K. C. & MENEZES C. Análise da capacidade produtiva de própolis em diferentes espécies de abelhas sem ferrão. In: XXIV Congresso Brasileiro de Zootecnia. Vitória – ES, 2014.

CORRAR, L. J.; FILHO, J. M. D.; PAULO, E. Análise multivariada para os cursos de administração, ciências contábeis e economia [S.l: s.n.], 2007.

COSTA, C. L.; AZEVEDO, C. P.; QUESADA-GÓMEZ, C.; BRITO, G. A. C.; REGUEIRA-NETO, M. DA S.; GUEDES, G. M. M.; ROCHA, M. F. G.; SIDRIM, J. J. C.; CORDEIRO, R. DE A.; CARVALHO, C. B. M.; CASTELO-BRANCO, D. DE S. C. M. Inhibitory effect of Brazilian red propolis on planktonic and biofilm forms of *Clostridioides difficile*. **Anaerobe**, 69, 2021.

CUNHA, I. B. S.; SAWAYA, A. C. H. F.; CAETANO, F. M.; SHIMIZU, M. T; MARCUCCI, M. C.; DREZZA, F. T.; POVIA, G. S.; CARVALHO, P. O. Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 964-70, 2004.

DE JESUS, J. C.; SILVA, G. J.; GONÇALVES, B. H. R. F.; DE SOUZA, M. R.; SANTOS, L. S.; FERRÃO, S. P. B. (2020). Quick identification of the time of maturation of artisanal minas cheese

by fir-ATR spectroscopy and multivariate techniques. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 31(10), 2000–2011.

DE LUCA, P. A. & VALLEJO-MARÍN, M. What's the 'buzz' about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination **Curr. Opin. Plant Biol.**, v. 16, p. 429-435, 2013.

DUTRA R. P. **Características físico-químicas de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) produzido no Estado do Maranhão**. Dissertação de Mestrado em saúde e Ambiente, Universidade Federal do Maranhão, Maranhão, 2006.

DUTRA, R. P.; BEZERRA, J. L.; SILVA, M. C. P.; BATISTA, M. C. A.; PATRÍCIO, F. J. B.; NASCIMENTO, F. R. F.; RIBEIRO, M. N. S.; GUERRA, R. N. M. Antileishmanial activity and chemical composition from Brazilian geopropolis produced by stingless bee *Melipona fasciculata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29 (3), p. 287–293, 2019.

DUTRA, R. P.; ABREU, B. V. B.; CUNHA, M. S.; BATISTA, M. C. A.; TORRES, L. M. B.; NASCIMENTO, F. R. F.; RIBEIRO, M. N. S.; GUERRA, R. N. M. Phenolic acids, hydrolyzable tannins, and antioxidant activity of geopropolis from the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 2549-2557, 2014.

FERREIRA, B. L.; GONZAGA, L. V.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; MALTEZ, H. F.; RESSUREIÇÃO, C.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. (2019). Southern-Brazilian geopropolis: A potential source of polyphenolic compounds and assessment of mineral composition. **Food Research International**, 126, 2019.

FERREIRA, J. M.; FERNANDES-SILVA, C. C.; SALATINO, A.; MESSAGE, D.; NEGRI, G. Antioxidant Activity of a Geopropolis from Northeast Brazil: Chemical Characterization and Likely Botanical Origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p.1-7, 2017.

FRANCHIN, M.; DA CUNHA, M. G.; DENNY, C.; NAPIMOGA, M. H.; CUNHA, T. M.; KOO, H.; DE ALENCAR, S. M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Geopropolis from *Melipona scutellaris* decreases the mechanical inflammatory hypernociception by inhibiting the production of IL-1b and TNF- α . **Journal of Ethnopharmacology** v. 143, p. 709–715, 2012.

FREITAS, M. O.; PONTE, F. A. F.; LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E, R. Flavonóides e triterpenos do ninho da abelha sem ferrão *Trigona spinipes*. **Journal Braz Chem Soc**, v. 19, p. 532 – 535, 2008.

GUZMÁN-GUTIÉRREZ, S. L.; NIETO-CAMACHO, A.; CASTILLO-ARELLANO, J. I.; HUERTA-SALAZAR, E.; HERNÁNDEZ-PASTEUR, G.; SILVA-MIRANDA, S.; ARGÜELLO-NÁJERA, O.; SEPÚLVEDA-ROBLES, O.; ESPITIA, C. I.; CHILPA, R. Própolis mexicana: uma fonte de antioxidantes e compostos anti-inflamatórios e isolamento de um novo derivado de chalcona e ϵ -caprolactona. **Moléculas**, v. 23, p. 334, 2018.

HONGYU, K.; SANDANIELO, V. L. M.; OLIVEIRA JÚNIOR, G. J. Análise de Componentes Principais: resumo teórico, aplicação e interpretação. **Engineering and Science**, v. 1, n. 5, p. 83–90, 2015.

HRNCIR, M.; JARAU, S.; BARTH, F. G. Stingless bees (*Meliponini*): senses and behavior. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 202, p. 597 – 601, 2016.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2022.

JIANG, J. A.; WANG, C. H.; CHEN, C. H.; LIAO, M. S.; SU, Y. L.; CHEN, W. S.; HUANG, C. P.; YANG, E. C.; CHUANG, C. L. 2016. A WSN-based automatic monitoring system for the foraging behavior of honey bees and environmental factors of beehives. **Comput Electron Agric**, v. 123, p. 304-318, 2016.

JIMÉNEZ, O.; PÉREZ, B.; SÁNCHEZ, T.; TOVAR, C.; BORDES, J. AND ZÁRATE, C. Evaluation of the Antiviral Activity of Propolis from Native Bees (*Plebeia frontalis*) against Canine Distemper Virus. **Open Journal of Veterinary Medicine**, 10, 2020.

KENNARD, R. W.; STONE, L. A. Computer Aided Design of Experiments. **Technometrics**, v. 11, n. 1, p. 137–148, 1969.

KERR, W. E. Abelhas indígenas brasileiras (meliponíneos) na polinização e na produção de mel, pólen, geoprópolis e cera. **Inf. Agropecuária**, v. 13, p. 15 – 22, 1987.

KLEIN, A. M.; FREITAS, B. M.; BOMFIM, I. G. A.; BOREUX, V.; FORNOFF, F.; OLIVEIRA, M. O. **Insect pollination of crops in Brazil: a guide for farmers, gardeners, politicians and conservationists**. Albert-Ludwigs University Freiburg, Nature Conservation and Landscape Ecology (first ed.), 2020.

LANDIM, C. D. C. Abelhas: morfologia e função de sistemas (primeira ed.), Unesp, São Paulo, 2009.

LAVINAS, F. C.; MACEDO E. H. B. C.; SÁ G. B. L.; AMARAL A. C. F.; SILVA J. R. A.; AZEVEDO M. M. B.; VIEIRA B. A.; DOMINGOS T. F. S.; VERMELHO A. B.; CARNEIRO C S.; RODRIGUES I. A. Brazilian stingless bee propolis and geoprópolis: promising sources of biologically active compounds. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 389-399, 2019.

LIMA, A. B. S.; BATISTA A. S.; SANTOS M. R. C.; ROCHA R. S.; SILVA M. V.; FERRÃO S. P. B. N.; ALMEIDA V. V. S.; SANTOS L. S. Spectroscopy NIR and MIR toward predicting simultaneous phenolic contents and antioxidant in red propolis by multivariate analysis. **Food Chemistry**. v. 367, p. 1-8, 2022.

LIMA, A. B. S.; BATISTA, A. S.; JESUS, J. C. De; SILVA, J. de J.; ARAÚJO, A. C. M. De; SANTOS, L. S. Fast quantitative detection of black pepper and cumin adulterations by near-infrared spectroscopy and multivariate modeling. **Food Control**, v. 107, p. 106802, 2020.

LIMA, M. V. D. **Geoprópolis produzida por diferentes espécies de abelhas: atividades antimicrobiana e antioxidante e determinação do teor de compostos fenólicos**. Programa de pós-graduação, Área em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, 2015.

LIMA, V. H. M.; DE, ALMEIDA, K.; DE C. R., ALVES, C. C. F.; RODRIGUES, M. L.; CROTTI, A. E. M.; SOUZA, J. M.; RIBEIRO, A. B.; SQUARISI, I. S.; TAVARES, D. C.; MARTINS, C. H. G.; & MIRANDA, M. L. D. Biological properties of volatile oil from Brazilian brown propolis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29 (6), p. 807–810, 2019.

LOPES, J.; LIMA, A.; RIBEIRO, R.; SANTOS, L. S.; VIANA, M.; PASSINI, S.; FERR, B.

Application of spectroscopic techniques and chemometric methods to differentiate between true cinnamon and false cinnamon. *368*, 2022.

LOPES, M.; FERREIRA, J. B.; SANTOS, G. Abelhas sem-ferrão: a biodiversidade invisível. **Agriculturas**, v. 2, n. 4, p. 7-9, 2005.

MACHADO, B. A. S.; SILVA, R. P. D.; BARRETO, G. de A.; COSTA, S. S.; SILVA, D. F. Da; BRANDÃO, H. N.; ROCHA, J. L. C. Da; DELLAGOSTIN, O. A.; HENRIQUES, J. A. P.; UMSZA-GUEZ, M. A.; PADILHA, F. F. Chemical Composition and Biological Activity of Extracts Obtained by Supercritical Extraction and Ethanolic Extraction of Brown, Green and Red Propolis Derived from Different Geographic Regions in Brazil. **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, p. 1–26, 2016.

MANOLOVA, N.; MAXIMOVA, V.; GEGOVA, G.; SEKEDJIEVA, Yu.; UZUNOV, S.; MAREKOV, N.; BANKOVA, V. On the antiinfluenza action of fractions from propolis. **Comptes rendus de l'Academie bulgare de Sciences**, v. 38, p. 735–738, 1985.

MARCUCCI, M. C. Propolis - Chemical-composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, n. 2, p. 83-99, 1995.

MAZUR, K. L.; FEUSER, P. E.; VALÉRIO, A.; POESTER CORDEIRO, A.; DE OLIVEIRA, C. I.; ASSOLINI, J. P.; PAVANELLI, W. R.; SAYER, C.; ARAÚJO, P. H. H. Diethyldithiocarbamate loaded in beeswax-copaiba oil nanoparticles obtained by solventless double emulsion technique promote promastigote death in vitro. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 176, p. 507–512, 2019.

MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. J. K. Vogel: **Análise química quantitativa**. 6^a ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 2002.

MENDONÇA, L. S. **Aspectos ambientais, químicos e biológicos relacionados à própolis vermelha**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente), Universidade Tiradentes, Aracaju, 2011.

MICHENER, C. D. The Meliponini. In P. Vit et al. (Eds.), Pot-honey a legacy of stingless bees. **New York: Springer**, p. 3–17, 2013.

MILLER, H. E. A. Simplified Method for the Evaluation of Antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 48, n. 2, p. 91, 1971.

MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: Uma abordagem aplicada**. Belo Horizonte, 2005.

MIORIN, P. L. *et al.* Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**. v. 95, n. 5, p. 913-920, 2003.

MIOTELO, L.; REIS, L.; M.; MALAQUIAS, O. M.; MALASPINA, O.; ROAT, T. C. *Apis mellifera* and *Melipona scutellaris* exhibit differential sensitivity to thiamethoxam. **Environmental Pollution**, v. 268, p. 1-12, 2021.

MISHRA, P.; ROGER, J. M.; MARINI, F.; BIANCOLILLO, A.; RUTLEDGE, D. N. FRUITNIR-GUI: A graphical user interface for correcting external influences in multi-batch near infrared experiments related to fruit quality prediction. **Postharvest Biology and Technology**, 175, 2021.

NASCIMENTO, T. G.; DE ALMEIDA, C. P.; DA CONCEIÇÃO, M. M.; DOS SANTOS S. A.; DE ALMEIDA, L. M.; DE FREITAS, J. M. D.; GRILLO, L. A. M.; DORNELAS, C. B.; RIBEIRO, A. S.; DA SILVA, J. F.; DA SILVA, C. J.; BASÍLIO-JÚNIOR, I. D.; DE FREITAS, J. D. Caseinates loaded with Brazilian red propolis extract: preparation, protein-flavonoids interaction, antioxidant and antibacterial activities. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2021.

NUNES, A.; FREITAS, M. P.; PINHEIRO, A. C. M.; BASTOS, C. S. Chemoface: Uma nova interface amigável e gratuita para quimiometria. **Revista da Sociedade Brasileira de Química**, v. 23, n. 11, p. 2003 – 2010, 2012.

NUNES, C. A.; GUERREIRO, M. C. Characterization of Brazilian green propolis throughout the seasons by Headspace - GC/MS and ESI-MS. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 92, p. 433-438, 2012.

OYAIZU, M. Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. **The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics**, v. 44, n. 6, p. 307–315, 1986.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; SCAMPARINI, A. R. P.; AGUIAR, C. L. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fotoquímicas de sua origem vegetal própolis. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 997–1003, 2002.

PAULA, L. C. M. **Paralelização de algoritmos APS e Firefly para seleção de variáveis em problemas de calibração multivariada**. Dissertação de Pós-Graduação. Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2014.

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

PEREIRA D. S.; HOLANDA-NETO J. P.; OLIVEIRA M. S.; PEREIRA, N. S.; MARACAJÁ P. B.; FILHO A. P. S. S. Phytotoxic potential of the geopropolis extracts of the jandaira stingless bee (*Melipona subnitida*) in weeds. **Rev. Caatinga**, v. 30, p. 876-84, 2017.

PEREIRA, S. N. G.; LIMA, A. B. S.; OLIVEIRA, T. D. F.; BATISTA, A. S.; JESUS, J. C.; FERRÃO, S. P. B.; SANTOS, L. S. Non-destructive detection of soybean oil addition in babassu oil by MIR spectroscopy and chemometrics. **Lwt**, 154, 2022.

PETER C.M.; PICOLI T.; ZANI J.L.; LATOSINSKI G.S.; LIMA M.; VARGAS G.D.; HÜBNER S.O.; FISCHER G. 2017. Antiviral and virucidal activity of hydroalcoholic extracts of propolis brown, green and jataí bees (*Tetragonisca angustula*) against Bovine Herpesvirus Type-1 (BoHV-1) and Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV). **Pesq. Vet. Bras.** v. 37, p. 667-675, 2017.

PINO, J. A.; MARBOT, R.; DELGADO, A.; ZUMARRAGA, C.; SAURI, E. Volatile Constituents of Propolis from Honey Bees and Stingless Bees from Yucatán. **Journal of Essential Oil Research**, v.18, p. 53-56, 2006.

- RISTIVOJEVIC, P.; ANDRIC, F.; TRIFKOVIC, J.; VOVK, I.; STANISAVLJEVIC, L.; TESIC, Z.; MILOJKOVIC-OPSENICA, D. Pattern recognition methods and multivariate image analysis in HPTLC fingerprinting of propolis extracts. **Journal of Chemometrics**. v. 28, n. 4, p. 301–310, 2014.
- RODRIGUES, A. S. **Etnoconhecimento sobre abelhas sem ferrão: saberes e práticas dos índios Guarani M'Byá na Mata-Atlântica**. Dissertação de Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESLQ), Piracicaba, 2005.
- SAKANAKA S.; TACHIBANA Y.; OKADA Y. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). **Food Chemistry**, v. 89, p. 569-575, 2005.
- SALATINO, A.; TEIXEIRA, E. W.; NEGRIL, G.; MESSAGE, D. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. 2 ° ed, **Cambridge: Oxford University Press**. p. 33–38, 2005.
- SANTOS, H. F. G.; CAMPOS, J. F.; SANTOS, C. M. D.; BALESTIERI, J. B.P.; SILVA, B. B.; CAROLLO, C. A.; SOUZA, K. P.; ESTEVINHO, L. M.; SANTOS, E. L. Chemical Profile and Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antimutagenic and Antimicrobial Activities of Geopropolis from the Stingless Bee *Melipona orbignyi*. **Revista de Ciências Moleculares**, v. 18, p. 953, 2017.
- SANTOS, L. A.; ROSALEN, P. L.; DIAS, N. A.; GRISOLIA, J. C.; NASCIMENTO GOMES, B. J.; BLOSFELD-LOPES, L.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M.; BURGER, E. Brazilian Red Propolis shows antifungal and immunomodulatory activities against *Paracoccidioides brasiliensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, 277, 2021.
- SANTOS, T. L. A.; QUEIROZ, R. F. Q.; SAWAYA, A. C. H. F.; LOPEZ, B. G.; SOARES, M. B. P.; BEZERRA, D. P.; RODRIGUES, A. C. B. C.; PAULA, V. F.; WALDSCHMIDT, A. M. *Melipona mondury* produces a geopropolis with antioxidant, antibacterial and antiproliferative activities. **An Acad Bras Cienc**, v. 89, p. 2247-2259, 2017.
- SARJIT, A.; WANG, Y.; DYKES, G.A. Antimicrobial activity of gallic acid against thermophilic *Campylobacter* is strain specific and associated with a loss of calcium ions. **Food Microbiology** v.46, p.227-233, 2015.
- SAWAYA, A. C. H. F.; CALADO, J. C. P.; DOS SANTOS, L. C.; MARCUCCI, M. C.; AKATSU, I. P.; SOARES, A. E. E.; ABDELNUR, P. V.; CUNHA, I. B. S.; EBERLIN, M. N. Composition and antioxidant activity of propolis from three species of *Scaptotrigona* stingless bees. **Journal of Api Product and Api Medical Science**. v. 1, p. 37–42, 2009.
- SFORCIN, J. M.; CONTI, B. J.; SANTIAGO, K. B.; CARDOSO, E. O; CONTE, F. L.; OLIVEIRA, L. P. G.; ARAÚJO, M. J. A. M. **Própolis e geoprópolis: uma herança das abelhas**. São Paulo: Editora Unesp Digital, 2017.
- SIESLER, H. W.; OZAKI, Y.; KAWATA, S.; HEISE, H. M. (Eds.). Near-infrared spectroscopy: principles, instruments, applications. **John Wiley & Sons**, 2008
- SILVA, B. B.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; IKEGAKY, M.; SAOUZA, V. C.; ESTEVES, A.; ALENCAR, S. M. Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of **Brazilian Propolis**. v. 5, p. 313–316, 2008.

SILVA, E. C. C.; MUNIZ, M. P.; NUNOMURA, R. C. S. Phenolic constituents and antioxidant activity of geopropolis from two species of amazonian stingless bees, **Química Nova**, v, 36, n, 5, 628-633, 2013.

SILVA, J. B.; COSTA, K. M.; COELHO, W. A.; PAIVA, K. A. R.; COSTA, G. A. V.; SALATINO, A.; FREITAS, C. I. A.; BATISTA, J. S. Quantificação de fenóis, flavonoides totais e atividades farmacológicas de geoprópolis de *Plebeia aff. flavocincta* do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n .9, p. 874-80, 2016.

SILVA, L. K. R.; JESUS, J. C.; ONEILLI, R. R. V.; CONCEIÇÃO, D. G.; SANTOS, L. S.; FERRÃO, S. P. B. Discriminating Coalho cheese by origin through near and middle infrared spectroscopy and analytical measures. Discrimination of coalho cheese origin. **International Journal of Dairy Technology**, v. 74, n. 2, p. 393–403, 2021.

SILVA, P. R.; SILVA, T. M. G.; CAMARA, C. M.; SILVA, E. M. S.; SANTOS, F. A. R.; SILVA, T. M. S. Palynological origin, phenolic content and antioxidant properties of geopropolis collected by mandaçaia (*Melipona mandacaia*) stingless. **Rev, Caatinga**, v. 33, n. 1, p. 246-252, 2020.

SILVEIRA, M. A. D., DE JONG, D., BERRETTA, A. A., GALVÃO, E. B. DOS S., RIBEIRO, J. C., CERQUEIRA-SILVA, T., AMORIM, T. C., CONCEIÇÃO, L. F. M. R. DA, GOMES, M. M. D., TEIXEIRA, M. B., SOUZA, S. P. DE, SANTOS, M. H. C. A. DOS, SAN MARTIN, R. L. A., SILVA, M. DE O., LÍRIO, M., MORENO, L., SAMPAIO, J. C. M., MENDONÇA, R., ULTCHAK, S. S., ... PASSOS, R. DA H. Efficacy of Brazilian green propolis (EPP-AF®) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: A randomized, controlled clinical trial. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 138, 2021.

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, 1998.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F., & CROUCH, S. R. Principles of instrumental analysis (C. Learning (ed.); 7a). **Cengage learning**, 2017.

SKOONG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMMAN. Princípios de Análise Instrumental. 6ª ed. [s.l: s.n.], 2009.

SOUZA, A. M. D.; BREITKREITZ, M. C.; FILGUEIRAS, P. R.; ROHWEDDER, J. J. R.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para calibração multivariada na determinação de paracetamol em comprimidos comerciais utilizando espectroscopia no infravermelho próximo: um tutorial, parte II. **Química Nova**, v. 36, n. 7, p. 1057-1065, 2013.

SOUZA, A. M. D.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. **Química Nova**, 2012.

SOUZA, A.; CAMARA, C. A.; SILVA, E. M. S.; SILVA, T. M. S. Composição e atividade antioxidante de geoprópolis coletada por abelhas *Melipona subnitida* (Jandaíra), 2013.

SOUZA, L. S. Produção de geoprópolis sob diferentes métodos de coletas em colônias de *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae). **Magistra** - Cruz das Almas-BA, v. 23, 2011.

SOUZA, S. A.; SILVA, T. M. G.; SILVA, E. M. S.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. Caracterização de compostos fenólicos por UPLC-QTOF-MS / MS da geoprópolis da abelha sem ferrão *Melipona subnitida* (jandaíra). **Phytochem**, v. 29, p. 549 – 558, 2018.

SUN, D. W. Infrared spectroscopy for food quality analysis and control. **Academic Press**, 2009.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Chemometrics II: Spreadsheets for experimental design calculations, a tutorial. **Química Nova**, 2006.

TOMAZZOLI, M.M.; PAI NETO, R.D.; MORESCO, R.; WESTPHAL, L.; ZEGGIO, A.R.; SPECHT, L.; COSTA, C.; ROCHA, M.; MARASCHIN, M. Discrimination of Brazilian propolis according to the seasoning using chemometrics and machine learning based on UV-vis scanning data. **Journal of Integrative Bioinformatics**. v. 12, n. 4, p. 279, 2015.

TURCO J. F.; NASCIMENTO C. L.; LIMA V. A.; TORRES Y. R. Could antioxidant capacity and flavonoid content of ethanolic extracts of geopropolis from Brazilian native bees be estimated from digital photos and NIR Spectral. **Microchemical Journal**, v. 157, p 1-10, 2020.

VELIKOVA, M.; BANKOVA, V.; MARCUCCI, M.C.; TSVETKOVA, I.; KUJUMGIEV, A. Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian meliponinae. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 55, p. 785-789, 2000.

VENEGAS, Y.; PEÑA, C.; PASTENE, E.; CONTRERAS, D. A new near-infrared method for simultaneous determination of caffeic acid phenethyl ester and antioxidant activity of propolis samples. **Journal of Apicultural Research**, v. 55, n. 1, p. 8-18, 2016.

WORKMAN JUNIOR, J. The Handbook of Organic Compounds, Three-Volume Set. [s.l.]: Academic Press, 2000.

XU, L.; YAN, S.; CAI, C.; YU, X. Untargeted detection and quantitative analysis of poplar balata (PB) in Chinese propolis by FT-NIR spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 141, p. 4132–4137, 2013.