



Investigação do Perfil Fitoquímico, antioxidante e genotóxico do pólen da Jataí (*Tetragonisca angustula*)¹

Investigation of the phytochemical, antioxidant and genotoxic profile of Jataí (*Tetragonisca angustula*) pollen¹

Poliane F. Monteiro¹, Carlas Thays Lima da Silva², Janderson M. da Silva¹, Vágner Leonan S. Sá², Gabriel de Jesus Santos², Julita Maria P. Borges³

RESUMO

Introdução: A *Tetragonisca angustula* (Jataí) é uma espécie de abelha sem ferrão da tribo Meliponini, da subfamília *Apidae*, amplamente distribuída pelo Brasil. Os bioprodutos gerados pela Jataí, como mel, própolis, geoprópolis e pólen são utilizados para fins medicinais e nutracêuticos. **Objetivo:** Investigar a fitoquímica, atividade antioxidante e genotoxicidade do pólen de Jataí. **Métodos:** Trata-se de um estudo experimental qualitativo/quantitativo *in vitro*. Foi realizada a Cromatografia em Camada Delgada (CCD) para separação dos compostos e investigação fitoquímica para avaliar a presença de saponinas e flavonóides (Reação de Shinoda). A genotoxicidade foi investigada usando o teste de cebola *Allium cepa*. Para avaliar a atividade antioxidante foi usado o método de captura do radical DPPH. **Resultados:** O teor de rendimento do EEP de Jataí foi 70,95%. A fitoquímica do EEP foi positiva para saponinas e flavonóides (especificamente flavonas). A porcentagem de eliminação do Radical DPPH• para a dose de 3 mg/mL foi de 12,52% (DP 3,9); a 6 mg/ml foi de 25,42% (DP 0,7); 12 mg/mL foi de 35% (DP 6,4) e 18 mg/mL foi de 65% (DP 1,8). **Conclusão:** O extrato de pólen de Jataí tem saponinas e flavonóides e potencial antioxidante, o que abre perspectivas para partição dos compostos e ampliar busca farmacológica.

Palavras-chave: Abelhas. Antioxidante. Fitoterapia. Genotoxicidade.

ABSTRACT

Introduction: *Tetragonisca angustula* (Jataí) is a species of stingless bee in the tribe *Meliponini*, in the subfamily *Apidae* widely distributed in Brazil. The bioproducts generated by Jataí, such as honey, propolis, geopropolis and pollen, are used for medicinal and nutraceutical purposes. **Objective:** Investigate the phytochemistry, antioxidant activity and genotoxicity of Jataí pollen. **Methods:** Thin Layer Chromatography (TLC) was used for compound separation and phytochemical investigation to assess the presence of saponins and flavonoids (Shinoda reaction). Genotoxicity was investigated using the *Allium cepa* onion test. To evaluate the antioxidant activity, the DPPH radical capture method was used. **Results.** A yield content of pollen extract of 70.95% was observed. Qualitative phytochemical tests performed with EEP showed the presence of saponins and flavonoids (specifically flavones). The percentage of scavenging of DPPH• Radicals for the 3 mg/mL dose was 12.52% (SD 3.9); at 6 mg/ml it was 25.42% (SD 0.7); 12 mg/mL was 35% (SD 6.4) and 18 mg/mL was 65% (SD 1.8). **Conclusion:** Jataí pollen extract has saponins and flavonoids and antioxidant potential, that opens the search for understanding the components and expand pharmacological.

Keywords: Bees. Antioxidant. Phytotherapy. Genotoxicity.

¹Graduando em Farmácia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, BA, Brasil.

²Farmacêutica, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, BA, Brasil.

³Departamento de Ciências e Tecnologias; Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, BA, Brasil.

INTRODUÇÃO

As abelhas sem ferrão pertencem a ordem *Hymenoptera* e à família *Apidae*, subfamília *Apinae* e tribo *Meliponini*. Esse grupo está distribuído em áreas tropicais e subtropicais do mundo e apresenta cerca de 500 espécies, diferindo em muitos aspectos, como hábitos e morfologia, do gênero *Apis* (MICHNER, 2013; RAMÓN-SIERRA *et al.*, 2015). No Brasil estas espécies estão distribuídas nas regiões semiáridas, onde foram observadas cerca de 244 espécies, divididas em 29 gêneros, de modo que as espécies mais comuns são a jataí (*Tetragonisca angustula*), uruçú (*Melipona scutellaris*), tiúba (*Compressipes melipona*) e mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*) (ROUBIK, *et al.*, 1997; CAMARGO & PEDRO, 2013).

A Jataí é uma espécie de abelha sem ferrão nativa do Brasil com ampla distribuição geográfica na América do Sul, sendo grandes polinizadoras, contribuindo com preservação de espécies, fortalecimento da agricultura e importante papel na meliponicultura. Nesse sentido, tem-se como um dos bioprodutos o pólen, que apresenta composição complexa, constituída por aminoácidos essenciais, hidratos de carbono, lipídios, sais minerais, vitaminas B, C, D, E, H e enzimas (ZERBO, MORAES e BROCHETTO-BRAGA, 2001). É, portanto, utilizado em indústrias farmacêuticas, por possuir fitoativos com atividade antioxidante, e antibactericida (CALDAS, 2019).

A meliponicultura, ou seja, o ato de criar abelhas no ambiente natural, além de obter bioprodutos preservando a composição da flora local, vem contribuindo com a conscientização Ambiental na população local, preservação da mata nativa e reflorestamento de áreas devastadas. O presente estudo, portanto, objetivou investigar a fitoquímica, a atividade antioxidante e genotoxicidade do pólen da *Tetragonisca angustula* (Jataí).

MATERIAIS E MÉTODOS

Tipo e local de estudo

Trata-se de um estudo experimental qualitativo e quantitativo. A amostra do produto das abelhas foi coletada no Município de Rio Antônio - BA. As coletas foram realizadas no final do período de longa estiagem, no mês de outubro.

Amostra e amostragem

A massa inicial (45,45 g) do pólen da Jataí foi adicionada à 400 mL de álcool etílico 95% como solvente extrator. Foram realizadas 3 extrações com intervalo de 72 horas, sendo o extrato submetido à evaporação do solvente. Calculou-se o teor e rendimento e teor do extrato seco.

Fitoquímica

Para Cromatografia em Camada Delgada (CCD) 5 µL do EEP, diluídos nas concentrações de 0,1-1%, foram aplicados nas cromatoplasmas de sílica, sendo a fase móvel uma mistura de (hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade nas concentrações (1%, 5% e 10%). As cromatoplasmas foram submetidas a luz UV (250 nm) por dois minutos para revelação de fitoquímicos fluorescentes.

A determinação de saponinas foi realizada com 200 mg/mL do EEP para 10 mL de água destilada, em decocção por 3 minutos. Em seguida, agitou-se a solução por 15 segundos, pôs em repouso por mais 15 minutos para verificação da formação de espuma. Para avaliar a presença de flavonóides, seguindo a Reação de Shinoda. Usou-se 2 mL (200 mg/mL) do EEP em cápsulas de porcelana aquecidas a 60°C até secar. O experimento foi realizado em triplicata.

Ensaio de atividade antioxidante

Para avaliar a capacidade antioxidante de fitoativos presentes no EEP, *in vitro*, foi utilizado o método de eliminação do radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•), uma reação que ocorre pela transferência de elétrons, ou reação marginal de transferência de um átomo de hidrogênio, adaptado por Brand-Williams *et al.* (1995). Para a reação, 250 µL de solução de DPPH• a 80 µM em metanol foi adicionada ao EEP nas concentrações de 3-18 mg/mL. O controle foi definido pela absorvância do DPPH• adicionado ao volume do solvente da amostra. As leituras das absorvâncias foram realizadas após 20 min do início da reação em espectrofotômetro a 517 nm. A análise estatística foi realizada por meio do software *GraphPad Prism* Versão 5.0.

Ensaio de genotoxicidade

Para avaliar a toxicidade de fitoativos do EEP, sementes de cebola (*Allium cepa*) germinadas foram expostas às doses de 0,4; 0,6; 1,2; 2,0; 4,0; 6,0 mg/mL de extrato etanólico de pólen por 72 h. Foram utilizados como controle negativo (C⁻) água filtrada com solvente da amostra e controle positivo (C⁺) solução de antraceno (1 mg/L). Foram analisadas cem (100) células/grupo com auxílio do microscópio óptico (marca Labomed, modelo Lx400) objetiva de 40x.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato etanólico apresentou teor de 70,95%, sendo que, considerando o período seco de colheita, cuja a vegetação predominante apresenta-se com poucas folhas, aspecto acinzentado e floração escassa, o rendimento do extrato foi considerado alto, o que evidencia presença de poucos resíduos insolúveis, de modo que sugere-se a presença de vegetação resistente às condições climáticas e à escassez hídrica, no semiárido baiano, utilizadas para produção do pólen, por essa espécie (FERREIRA *et al.*, 2022).

Ao avaliar o perfil químico, a mistura hexânica mais concentrada permitiu separar e arrastar os componentes na cromatoplaça (CCD) quando comparada com as misturas em metanol e clorofórmio, pontuando a presença da maioria dos compostos do extrato de pólen de Jataí, de natureza apolar, cujo fator de retenção (Rf) foi igual a 0,58. Os testes fitoquímicos qualitativos realizados com o extrato etanólico do pólen apícola da jataí apresentaram resultados positivos para saponinas e flavonóides. Em estudo realizado por Lopes *et al.* (2018) identificaram ácidos orgânicos e compostos fenólicos no pólen de outra meliponeira, a *Melipona fasciculata* Smith. O que sugere que outros fitoconstituintes precisam ser investigados, e a fitoquímica quantitativa precisa ser realizada.

Em busca por fitoativos no extrato de pólen de jataí, a atividade antioxidante foi investigada. A porcentagem de sequestro de radicais DPPH• para a dose de 3 mg/mL foi de 12,52% (SD3.9); a 6 mg/mL foi de 25,42 % (SD 0,7); de 12 mg/mL foi 35 % (SD 6.4) e 18 mg/mL foi de 65% (SD1.8). Outros estudos revelam perfil antioxidante em outros bioprodutos da Jataí, como mel, própolis, geoprópolis, de modo que o pólen produzido pela *Tetragonisca angustula* pode ser considerado como objeto de pesquisa para novas alternativas farmacológicas (RODRÍGUEZ-MALAVÉ *et al.*, 2009; TORRES *et al.*, 2018; BILUCA *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2020; LIMA *et al.*, 2021).

Não foram observadas alterações celulares ou moleculares nas doses usadas no teste de genotoxicidade. As estruturas da planta foram preservadas, propriedades de crescimento de folhas e raízes foram mantidas. Não foram observadas alterações citomorfológicas.

CONCLUSÃO

O extrato do pólen da Jataí possui compostos polares (saponinas e flavonoides - flavona). Mais estudos são necessários para isolamento e identificação destes

compostos. Nas doses testadas o extrato de pólen tem atividade antioxidante, mas não genotóxica no modelo do estudo. Contudo, é necessário análises toxicológicas em sistemas mais complexos e sensíveis, para garantir segurança no uso humano.

REFERÊNCIAS

1. BILUCA, F. C.; SILVA, B. da.; CAON, T.; MOHR, E. T. B.; VIEIRA, G. N.; GONZAGA, V.; VITALI, L.; MICKE, G.; FETT, R.; DALMARCO, E. M.; COSTA, A. C. O. Investigation of phenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory activities in stingless bee honey (Meliponinae). **Food Research International**, v. 129, 2020.
2. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LTW - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
3. CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M.; MELO, G. A. R., 2013. Meliponini Lepeletier, 1836. In MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version**. Disponível em: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acesso em: 19 de julho de 2022.
4. FERREIRA, A. B.; NOVAES, C. G.; JESUS, H. O. de.; BORGES, J. M. P.; RAMOS, F. S.; PEREIRA, A. J.; OLIVEIRA, D. M. de.; AGUIRA, R. M. Honey of *Tetragonisca angustula* from Southwestern Bahia: Influence of Seasonality on the Physicochemical Profile and Glioma Cell Inhibitory Effect. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 00, n. 00, p. 1-11, 2022.
5. LIMA, A. O. C.; DIAS, E. R.; REIS, I. M. A.; CARNEIRO, K. O.; PINHEIRO, A. M.; NASCIMENTO, A. S.; SILVA, S. M. P. C.; CARVALHO, C. A. L.; MENDONÇA, A. V. R.; VIEIRA, I. J. C.; BRAZ FILHO, R.; BRANCO, A. Ferulic acid as major antioxidant phenolic compound of the *Tetragonisca angustula* honey collected in Vera Cruz - Itaparica Island, Bahia, Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 84, 2021.
6. LOPES, A. J. O.; VASCONCELOS, C. C.; PEREIRA, F. A. N.; SILVA, R. H. M.; QUEIROZ, P. F. D. S.; FERNANDES, C. V.; GARCIA, J. B. S.; RAMOS, R. M.; ROCHA, C. Q. D.; LIMA, S. T. J. R. M.; CARTÁGENES, M. D. S. S.; RIBEIRO, M. N. S. Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activity of Pollen Extract Collected by Stingless Bee *Melipona fasciculata*. **Int J Mol Sci.**, v. 20, n. 18, p. 4512, 2019.
7. MICHENER C. D. The Meliponini. Pot-Honey: A legacy of stingless bees. **Springer Science**. New York, 2012.
8. RAMÓN-SIERRA, J. M.; RUIZ-RUIZ, J. C.; ORTIZ-VÁZQUEZ, E. de L. L. Electrophoresis characterisation of protein as a method to establish the entomological origin of stingless bee honeys. **Food Chem**. v.183, p. 43-48, 2015.
9. RODRÍGUEZ-MALAVERA, A. J.; RASMUSSEN, C.; GUTIÉRREZ, M. G.; GILD, F.; NIESVESD, B.; VITC, P. Properties of Honey from Ten Species of Peruvian Stingless Bees. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 9, 2009
10. ROUBIK, D.; ARTURO, J.; SEGURA, L.; CAMARGO, J. M. F. de. New stingless bee genus endemic to Central American cloudforests: Phylogenetic and biogeographic implications (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Systematic Entomology**, v. 22. p. 67-80, 1997.

11. SAAVEDRA C, K. I.; ROJAS I, C.; DELGADO P, G. E. Características polínicas y composición química del polen apícola colectado en Cayaltí (Lambayeque - Perú). **Rev. chil. nutr.**, v. 40, n. 1, p. 71-78, 2013.
12. TORRES, A. R.; SANDJO, L. P.; FRIEDMANN, M. T.; TOMAZZOLI, M. M.; MARASCHIN, M.; MELLO, C. F.; SANTOS, A. R. S. Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 51, n. 6, 2018.
13. ZERBO, A. do C.; MORAES, R. L. M. S. de.; BROCHETTO-BRAGA, M. R. Protein requirements in larvae and adults of *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae): midgut proteolytic activity and pollen digestion. **Comparative Biochemistry and Physiology- Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 129, n. 1, p. 139-147, 2001.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e à Universidade Estadual da Bahia (UESB), pelo apoio no desenvolvimento e realização deste estudo.