

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

QUÍMICA TECNOLÓGICA

DETERMINAÇÃO DE MARCADORES EM MÉIS DE ABELHAS-SEM-FERRÃO POR RMN: UM ESTUDO BASE PARA INVESTIGAÇÃO DE ADULTERAÇÕES

Ryan Luka da Silva Borges

Campo Grande – MS

2025

Ryan Luka da Silva Borges

DETERMINAÇÃO DE MARCADORES EM MÉIS DE ABELHAS-SEM-FERRÃO POR RMN: UM ESTUDO BASE PARA INVESTIGAÇÃO DE ADULTERAÇÕES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Instituto de Química como requisito básico para a conclusão do Curso de Bacharel em Química Tecnológica.

Orientadora: Profa. Dra. Glaucia Braz Alcantara

Coorientadora: Dra. Luciana Marçal Ravaglia

Campo Grande - MS

2025

RYAN LUKA DA SILVA BORGES

DETERMINAÇÃO DE MARCADORES EM MÉIS DE ABELHAS-SEM-FERRÃO POR RMN: UM ESTUDO BASE PARA INVESTIGAÇÃO DE ADULTERAÇÕES

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela Banca Examinadora para obtenção do Grau de Bacharelado, no Curso de Química Tecnológica da Universidade da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Campo Grande, 11 de julho de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Glaucia Braz Alcantara – Doutora - UFMS – Orientadora

Prof. Diego Galvan - Doutor - UFSC

Jéssica Barrionuevo Ressutte - Doutora - UEL

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer a todo corpo docente da UFMS, técnicos e funcionários auxiliares que possibilitaram a realização do meu curso. Gostaria de agradecer à minha família por todo o apoio e ser a base que me sustentou em toda duração do curso. Aos melhores amigos que a Química me deu, Cássio e Myllena, que dividiram muito comigo nessa jornada de aprendizado. A todos os integrantes do Laboratório de RMN e LP2. À minha orientadora prof. ^a Glaucia por todo apoio e dedicação para meu desenvolvimento profissional e científico. À minha mãe prof.^a Jaqueline, inspiração de vida para realizar o curso de ensino superior e me tornar um cidadão com consciência crítica, e aos meus irmãos Alexandre e Raíssa.

RESUMO

O uso em potencial de mel de abelha-sem-ferrão pelas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica vem aumentando nas últimas décadas. No entanto méis de muitas espécies são pouco investigados ou ainda sequer foram estudados. O mel de abelhas-sem-ferrão há muito é considerado um alimento de alto valor nutritivo e com importantes propriedades terapêuticas. Recentemente houve a determinação do componente bioativo trehalulose, um dissacarídeo isômero da sacarose com uma ligação glicosídica α -(1 $\rightarrow$ 1) glucose-frutose. Estudos recentes ressaltaram a dificuldade em distinguir a presença de maltose e trehalulose em méis de abelhas-sem-ferrão brasileiros utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, da sigla em inglês), e outros trabalhos confirmaram a presença de trehalulose em méis de abelhas-sem-ferrão produzidos pelas mais variadas espécies de diferentes regiões. Com a problemática do mel ser uma mistura complexa, surge a oportunidade de utilizar a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para determinar possíveis marcadores de qualidade e autenticidade. Neste trabalho, a espectroscopia de RMN foi empregada para a elucidação estrutural de padrões de maltose e trehalulose, juntamente com *spiking* de padrão para caracterização inequívoca de trehalulose em méis das espécies *Tetragona clavipes* e *Melipona marginata*. Os resultados obtidos confirmam a presença de trehalulose e apontam para uma concentração consideravelmente maior de trehalulose em relação à maltose no mel da espécie *Tetragona clavipes*, com uma proporção relativa dos tautômeros 1a, 1b, e maltose de 20:5:1, e no mel da espécie *Melipona marginata* uma proporção relativa 2:0,5:1. Conclui-se que a espectroscopia de RMN é uma técnica eficaz para distinguir os açúcares e suas proporções relativas, possibilitando atestar que a amostra de mel de *Tetragona clavipes* possui proporção consideravelmente maior de trehalulose que a amostra de mel de *Melipona marginata*.

Palavras-chave: Mel, Abelha-sem-ferrão, RMN de ^1H , trehalulose.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Aplicação de campo magnético e alinhamento dos núcleos	3
Figura 2 - Fórmula estrutural da maltose, (4-O- α -D-glicopiranosil-D-glicopiranosose), nas duas formas anoméricas, com caracterização da posição dos carbonos para comparação com os dados das Tabelas 1 e 2.....	8
Figura 3 - Figura 3: Espectro de RMN de ^1H do padrão de maltose e ampliação dos sinais característicos desta substância.....	9
Figura 4: Espectro de RMN de ^{13}C do padrão de maltose e ampliação dos sinais característicos desta substância em matrizes como mel (Nunes, 2025)	10
Figura 5: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de HSQC do padrão de maltose com ampliação de 3,00 – 5,60 ppm em F2 e 61 – 105 ppm em F1. Obs. Experimento HSQC sensível à fase, com fase positiva na cor azul e fase negativa, verde.....	10
Figura 6: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de COSY do padrão de maltose com ampliação de 3,10 – 5,55 ppm em F2 e 3,00 – 5,73 ppm em F1	11
Figura 7: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de TOCSY do padrão de maltose com ampliação de 3,10 – 5,55 ppm em F2 e 3,00 – 5,70 ppm em F1	11
Figura 8: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de HMBC do padrão de maltose com ampliação de 3,00 – 5,60 ppm em F2 e 61 – 105 ppm em F1	12
Figura 9: Mapa de correlação obtido a partir do experimento JRES do padrão de maltose com ampliação de 3,00 – 5,60 ppm.....	12
Figura 10: Exibição múltipla de espectros de RMN de ^1H com <i>spiking</i> de trehalulose em amostras de mel de abelha-sem-ferrão de <i>Tetragona clavipes</i> (superior) e <i>Melipona marginata</i> (inferior) na principal região de marcador (4,90 a 5,06 ppm), correspondente aos sinais dos hidrogênios 1' das formas tautoméricas 1a e 1b apresentadas na Figura 11 ...	13
Figura 11. Fórmula estrutural dos tautômeros da trehalulose 1-O- α -D-glicopiranosil- β -D-frutopiranosose (1a) e 1-O- α -D-glicopiranosil- β -D-frutofuranose (1b), com caracterização da posição dos carbonos para comparação com os dados das Tabelas 3, 4 e 5.....	14
Figura 12. Espectro de RMN de ^1H do padrão de trehalulose e ampliação dos sinais característicos dessa substância	16
Figura 13. Ampliação do espectro de RMN de ^1H do padrão de trehalulose para a região de 4,90 a 5,06 ppm correspondente aos hidrogênios 1' dos tautômeros 1a (em 4,97 ppm) e 1b (em 5,00 ppm), com destaque à proporção relativa por meio da integral dos sinais marcadores desta substância	17
Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C do padrão de trehalulose e ampliação dos sinais característicos dessa substância	18

Figura 15. Mapa de correlação obtido a partir do experimento de HSQC do padrão de trehalulose com ampliação de 61 – 105 ppm em F1 e 3,20 – 5,10 ppm F2	18
Figura 16. Mapa de correlação obtido a partir do experimento de COSY do padrão de trehalulose com ampliação de 3,20 – 5,40 ppm em F1 e 3,40 – 5,20 ppm em F2	19
Figura 17. Mapa de correlação obtido a partir do experimento de TOCSY do padrão de trehalulose com ampliação de 3,20 – 5,40 ppm em F1 e 3,30 – 5,20 ppm em F2	19
Figura 18. Mapa de correlação obtido a partir do experimento de HMBC do padrão de trehalulose com ampliação de 60 – 110 ppm em F1 e 3,20 – 5,20 ppm em F2	20
Figura 19. Mapa de correlação obtido a partir do experimento JRES do padrão de trehalulose com ampliação de 3,30 – 5,15 ppm em F1	20
Figura 20. Espectro de RMN de ^1H das amostras de mel de <i>Tetragona clavipes</i> (superior), mel de <i>Melipona marginata</i> (ao centro) e padrão de trehalulose (inferior), com ampliações e deslocamentos químicos dos sinais característicos de trehalulose e maltose, e destaque aos sinais de trehalulose	21
Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C das amostras de mel de <i>Tetragona clavipes</i> (superior), mel de <i>Melipona marginata</i> (ao centro) e padrão de trehalulose (inferior), com ampliação e deslocamentos químicos dos sinais marcadores de trehalulose e maltose, e destaque aos sinais de trehalulose	22
Figura 22. Espectro de RMN de ^1H das amostras de mel de <i>Tetragona clavipes</i> (superior), mel de <i>Melipona marginata</i> (abaixo) com ampliação e deslocamentos químicos dos sinais marcadores de trehalulose e maltose, e proporção relativa	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Assinalamento espectral de RMN da maltose, segundo a literatura.....	7
Tabela 2: Assinalamento espectral de RMN do padrão de maltose, em solução preparada neste trabalho	8
Tabela 3: Assinalamento espectral de RMN da trehalulose, segundo a literatura (Fletcher <i>et al.</i> , 2020).....	14
Tabela 4: Assinalamento espectral de RMN do padrão de trehalulose obtido sobre o tautômero 1a, em solução preparada neste trabalho	15
Tabela 5: Assinalamento espectral de RMN do padrão de trehalulose obtido sobre o tautômero 1b, em solução preparada neste trabalho	15

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA	2
3. OBJETIVOS.....	4
3.1 OBJETIVO GERAL	4
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
4. METODOLOGIA DA PESQUISA.....	5
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	6
6. CONCLUSÃO	24
7. REFERÊNCIAS	25

1. INTRODUÇÃO

As abelhas-sem-ferrão, também chamadas de Meliponíneas, nativas, ou abelhas indígenas, são um amplo grupo de abelhas eussociais e apresentam uma gama de variações de aspectos comportamentais, comunicação, forrageamento, densidade populacional, arquitetura de ninho, entre outros (Nogueira-Neto, 1997). Mais de 500 espécies de abelhas-sem-ferrão foram descritas e 61 gêneros são distribuídos na América Latina, Austrália, África, e partes tropicais da Ásia (Souza *et al.*, 2021). No Brasil, mais de 300 espécies foram catalogadas e distribuídas ao longo de todo território nacional. Essas abelhas têm um papel fundamental na polinização e na manutenção da biodiversidade dos biomas brasileiros (Lima *et al.*, 2016, Rezende *et al.*, 2020, Sato *et al.*, 2023). Na cadeia produtiva das abelhas-sem-ferrão, o mel é o principal produto comercializado. Em comparação ao mel de *Apis mellifera*, o mel de Meliponíneas apresenta características distintas como cristalização lenta, sabor ácido e maior fluidez (Ávila *et al.*, 2018).

O uso em potencial do mel de abelha-sem-ferrão pelas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica vem aumentando nas últimas décadas. Artigos publicados referindo-se a “*stingless bee honey*” aumentaram de 288 itens em 1998 para 1870 em 2018, demonstrando o crescente interesse da comunidade científica no estudo (Ávila *et al.*, 2018). Vários estudos sobre a aplicação de méis de abelha-sem-ferrão com fins terapêuticos demonstraram propriedades pertinentes dessa matriz, incluindo propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e anticancerígenas, principalmente em comparação com mel de *Apis mellifera* (Amin *et al.* 2018). No entanto méis de muitas espécies são pouco investigados ou ainda sequer foram estudados, como apontado por Souza e colaboradores (2021), cujos perfis químicos de espécies nativas são muito pouco explorados.

O mel de abelhas-sem-ferrão há muito é considerado um alimento de alto valor nutritivo e com importantes propriedades terapêuticas. Recentemente foi realizada a determinação do componente bioativo trehalulose (Fletcher *et al.*, 2020). A trehalulose é um dissacarídeo isômero da sacarose com uma ligação glicosídica α -(1 $\rightarrow$ 1) glucose-frutose, cujas propriedades acariogênicas e de baixo índice glicêmico são bem estabelecidas (Hungerford *et al.*, 2021).

Enquanto estudos recentes ressaltaram a dificuldade em distinguir a presença de maltose e trehalulose em méis brasileiros utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, da sigla em inglês) (Ressutte *et al.*, 2025), estudos que fizeram separação por HPLC com ionização por eletrospray acoplado a espectrômetro de massas em tandem, HPLC-ESI-MS/MS, em amostras de méis confirmaram a presença de trehalulose por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) em méis de abelhas-sem-ferrão produzidos pelas espécies *Tetragonula carbonaria* e *Tetragonula hockingsi* da Austrália, pelas espécies *Geniotrigona thoracica* e *Heterotrigona itama* da Malásia, e *Tetragonisca angustula* do Brasil (Fletcher *et al.*, 2020).

Também foi confirmada, por meio de HPLC com detector de índice de refração (HPLC-RID), a presença e abundância de trehalulose em méis de abelhas-sem-ferrão da China em cinco espécies diferentes: *Lepidotrigona arcifera*, *Lepidotrigona terminata*,

Lepidotrigona flavibasis, *Tetragonula gressiti* e *Tetragonula pagdeni*, providenciando uma base para padrões de qualidade desse produto (Zheng *et al.*, 2025). O método utilizado nesse trabalho foi baseado em outro trabalho do mesmo grupo de pesquisa que otimizou a técnica para determinação de trehalulose (Zheng *et al.*, 2022).

Um estudo com a espécie *Tetragonula carbonaria* demonstrou a origem de trehalulose por meio de testes alimentando as abelhas com soluções preparadas de glucose com frutose, e de solução de sacarose. Concluiu-se que as soluções de glucose e frutose 1:1 não produziram trehalulose, enquanto a partir de sacarose houve a completa conversão majoritariamente em trehalulose, mas com claros subprodutos artificiais, como a erlose, dando um bom sinal de adulteração (Hungerford *et al.*, 2021).

Esses trabalhos evidenciam a escassez de análises adequadas e padronizações para um produto que potencialmente se tornará valioso no mercado. No Brasil até 2023 havia legislação somente referente à classificação de mel de *Apis mellifera*, não relacionado com os produtos de abelhas-sem-ferrão. No entanto os estados da Bahia e São Paulo definiram parâmetros para esse produto, tais como classificação por origem, processamento ou estado do material (líquido, cremoso ou cristalizado), quantidade de açúcares redutores, umidade, sacarose aparente, pureza, com objetivo de controle de qualidade e formalização da venda (Souza *et al.*, 2021). Em 10 de maio de 2023 foi aprovada a Portaria nº 795 publicada pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), que aprova as normas higiênico-sanitárias e tecnológicas para os estabelecimentos que elaboram produtos de abelhas e derivados (BRASIL, 2023).

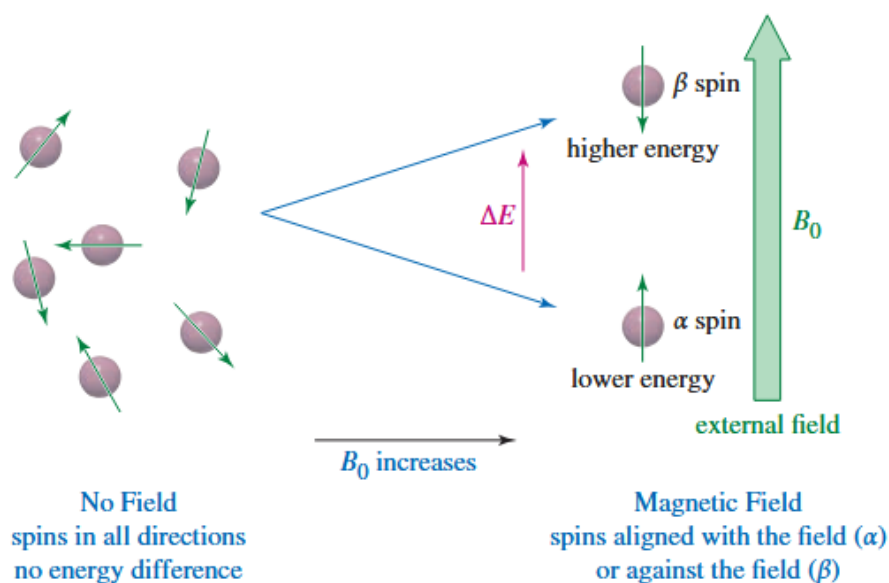
Neste contexto, a caracterização inequívoca da trehalulose em méis produzidos no Brasil por abelhas-sem-ferrão, é especialmente relevante para a definição de um possível marcador desta substância, com promissora aplicabilidade em futuros estudos de misturas e/ou adulterações desses produtos.

2. JUSTIFICATIVA

A RMN é uma técnica espectroscópica robusta, versátil e muito informativa, altamente indicada na elucidação estrutural de compostos orgânicos, naturais e sintéticos, amplamente utilizada nas áreas Química, Farmácia, Bioquímica e Ciência dos Materiais. O núcleo de todos os átomos pode ser caracterizado por um número quântico de spin nuclear, I , que pode ter valor maior ou igual a zero e que são múltiplos de $\frac{1}{2}$. Aqueles com $I=0$, não possuem spin nuclear, logo não podem emitir sinal de RMN. O núcleo com spin diferente de zero possui momento angular e momento magnético associados à carga (Claridge, 2016).

Quando um campo magnético externo (B_0) é aplicado, o momento magnético do núcleo tende a alinhar-se ao campo, em estado de menor energia α com mesma orientação com B_0 ou em estado de maior energia β de orientação contrária. Sem um campo magnético, os spins se orientam em todas as direções, e não possuem diferença de energia (Figura 1) (Claridge, 2016).

Figura 1: Aplicação de campo magnético e alinhamento dos núcleos.



Fonte: Wade, 2022.

Sob a ação do campo magnético nos momentos magnético e angular do núcleo, os spins nucleares assumem um movimento de precessão com frequência característica (frequência de Larmor). Quando um núcleo, em precessão, é sujeito à combinação correta de campo magnético e radiação eletromagnética, ocorre o fenômeno da ressonância, cuja absorção de energia e sua respectiva relaxação são detectadas pelo espectrômetro, como pode-se observar na equação 1:

$$\Delta E = h\nu = \frac{h\gamma B_0}{2\pi} \quad (1)$$

Onde h é a constante de Planck, ν frequência da onda eletromagnética, γ razão magnetogírica, B_0 campo magnético.

Uma das vantagens únicas da análise de amostras por RMN é a capacidade de identificar uma ampla gama de compostos diretamente de extratos brutos (Fan, 1996). Consequentemente a espectroscopia de RMN vem sendo cada vez mais utilizada em análise de alimentos, possibilitando determinação da composição química e dinâmica molecular de matrizes sólidas, líquidas e semissólidas. Desse modo, métodos baseados em RMN têm sido empregados para investigar adulteração, origem geográfica e botânica, e caracterização de alimentos e bebidas como café, vinho, vinagre, temperos e mel (Nunes *et al.*, 2025).

Embora estudos por RMN em méis de abelhas-sem-ferrão tenham investigado a presença de trehalulose, até o momento não há registros de pesquisas que tenham avaliado esse açúcar em méis brasileiros. Isso aponta para uma oportunidade relevante de explorar o perfil espectral dessas matrizes.

Em estudos anteriores que avaliaram a influência do gênero e da origem de abelhas brasileiras no perfil químico, foram constatados que o gênero é o fator de maior importância na variação entre as amostras (Ressutte *et al.*, 2025). Neste trabalho foi feita a análise de méis de abelha-sem-ferrão das espécies *Tetragona clavipes* e *Melipona marginata* tendo em conta os resultados obtidos de concentração da mistura de maltose + trehalulose, cujos méis de *Tetragona clavipes* apresentaram maior concentração da mistura em relação a méis de *Melipona marginata* (Ressutte *et al.*, 2025).

Um outro aspecto relevante no estudo destes açúcares é que o tempo de retenção cromatográfica de sacarose pode coincidir com maltose e trehalulose, dependendo do método utilizado (Zaidi *et al.*, 2023). Especialmente no trabalho de Ressutte e colaboradores (2025), não foi levada em consideração a mistura de sacarose pois as amostras correspondiam aos méis sem adulteração, onde a constatação prévia por meio de HPLC apontara não haver sacarose nas espécies *Tetragona clavipes* e *Melipona marginata*.

Ressutte e colaboradores (2025) também apontaram que em estudos anteriores, onde haviam sido atestadas que apenas maltose/sacarose estavam presentes em méis de abelha-sem-ferrão, altas concentrações do que de fato poderia ser trehalulose foram observadas, como valores relatados por Shamsudin *et al.* (2019) em amostras da Malásia (*Heterotrigona*, 22,56–37,35 % e *Geniotrigona*, 28,96–43,15 %), e por Chuttong *et al.* (2016) em amostras da Tailândia (*Tetragonula laeviceps*, 15–57 %). Vit *et al.* (1998) também encontraram altos valores de maltose em mel de *Frieseomelitta aff. varia* da Venezuela (56,9 %). Ressutte e colaboradores (2025) analisaram mel de abelha-sem-ferrão de mesmo gênero *Frieseomelitta* com uma concentração de mistura trehalulose + maltose de 13,61–35,15 %.

Desta forma, no presente trabalho, investigaremos os méis de *Tetragona clavipes* e *Melipona marginata* a fim de contribuir cientificamente para o estudo de méis de abelha-

sem-ferrão, objetivando elucidar os açúcares característicos nessas amostras e possibilitar a utilização de um marcador de qualidade e legitimidade para produtos derivados.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Utilizar a Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear para a atribuição inequívoca da presença de trehalulose e maltose em méis de abelha-sem-ferrão das espécies *Tetragona clavipes* e *Melipona marginata*.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar experimentos de RMN com adição de padrão trehalulose (*spiking*) a fim de identificar sinais marcadores deste açúcar nos méis estudados;
- Executar experimentos de RMN bidimensionais (HSQC, HMBC, TOCSY, COSY, JRes) das amostras padrão de trehalulose e maltose, bem como dos méis estudados;
- Realizar a elucidação estrutural das amostras padrão de trehalulose e maltose, e destas moléculas nos méis avaliados;
- Determinar a proporção relativa entre trehalulose e maltose nos méis estudados.

4. METODOLOGIA DA PESQUISA

4.1. Amostras

Amostras de mel de *Tetragona clavipes*, originada do Paraná, e *Melipona marginata*, originada do Rio Grande do Sul, foram utilizadas no presente estudo. Para o preparo individual das amostras para as análises de RMN, massas de 160 mg de mel foram pesadas, diluídas em 440 μ L de D₂O e 200 μ L de tampão deuterado fosfato pH 7,07 com TMSP-d4 (sal de sódio do ácido 2,2,3,3-d4-trimetilsililpropiónico) 0,05%. As soluções foram centrifugadas a 12.000 rpm por 2 minutos e transferidas para tubos de RMN de 5 mm.

4.2 Padrões de maltose e trehalulose

Para as análises de RMN, amostra de maltose (PA, monoidratada, Sigma-Aldrich (CAS 6363-53-7)) contendo 19,7 mg em 600 μ L D₂O com TMSP-d4 0,05% foi acondicionada em tubo de RMN de 5 mm. Amostra de trehalulose 70% (0,1g, Biosynth (CAS 51411-23-5)) contendo 100 mg foi dissolvida em 600 μ L D₂O com TMSP-d4 0,05% e acondicionada em tubo de RMN de 5 mm.

4.3 Spiking de amostras

Nas amostras de mel de *Tetragona clavipes* e *Melipona marginata*, sucessivos volumes da solução padrão de trehalulose preparada no item 4.2 foram adicionados para confirmação da presença deste açúcar na matriz. Os volumes totais adicionados de solução de trehalulose foram de 25 μ L= 4,17 mg; 50 μ L= 8,33 mg; 100 μ L= 16,67 mg.

4.4 Análises de RMN

As análises de RMN foram executadas em um espectrômetro Bruker AVANCE NEO de 11,75 T, operando a 500 MHz para a frequência do ¹H, disponível no LabRMN-UFMS. O equipamento possui sonda Smartprobe® e automação experimental (amostrador, sintonia e shimming automáticos, controle de temperatura). Os espectros de RMN de ¹H foram obtidos utilizando-se as sequências de pulsos zg30 e zgpr para supressão do sinal residual de HOD. As aquisições foram realizadas com NS de 32 varreduras, TD 64k, SW 20 ppm, AQ 3,2 s, O1P 4,7 ppm. Adicionalmente, experimentos bidimensionais de RMN (HSQC, HMBC, COSY, TOCSY, JRes) foram adquiridos para o assinalamento dos compostos.

4.5. Proporção Relativa

A proporção relativa foi feita utilizando como sinal de referência o padrão TMSP-d4, com área de integração definida como 1,000 do espectro de mel de *Melipona marginata*, e em seguida as integrais dos sinais marcadores de trehalulose e maltose das amostras.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a análise das amostras, primeiramente realizou-se o assinalamento completo da maltose, que é um açúcar naturalmente comum em méis. A maltose (Figura 2) já tem sua caracterização estrutural bem estabelecida na literatura (Wishart *et al.*, 2008; Hoch *et al.*, 2023) e possui os seguintes assinalamentos, conforme apresentado na Tabela 1. Os dados de RMN assinalados para o padrão de maltose analisado neste trabalho estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 1: Assinalamento espectral de RMN da maltose, segundo a literatura.

Referência HMDB (WISHART <i>et al.</i> , 2008)			Referência BMRB (HOCH <i>et al.</i> , 2023)					
Posição	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	Posição	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	COSY	TOCSY	HMBC
1	5,40	102,28	1	5,42	102,31	3,57	15, 12, 11	13, 11, 2
2	5,22	94,65	2	5,23	94,63	3,57	15, 4	5, 4
3	4,64	98,50	3	4,65	98,50	3,27	17, 14, 9	14, 8
4	3,96	75,97	4	3,97	75,98	3,57;3,64	13, 2	15, 13, 7
5	3,93	72,69	5	3,94	72,70	3,64;3,94	-	-
6	3,90	63,23	6	3,90	63,50	3,94	13	-
7	3,81	63,30	7	3,84	63,29	3,72	16	16, 4
8	3,76	63,29	8	3,77	63,29	-	17, 16, 14, 3	17, 16, 13, 3
9	3,77	63,29	9	3,77	63,29	-	17, 16, 14, 3	17, 16, 13, 3
10	3,76	79,01	10	3,76	79,04	-	17, 16, 14, 3	17, 11, 8
11	3,71	75,44	11	3,72	75,43	3,42	16, 15	7
12	3,67	75,68	12	3,68	75,62	3,57;3,42	16, 15, 1	13
13	3,63	79,42	13	3,64	79,48	3,94;3,97	9, 5, 3	14, 12, 8, 6
14	3,58	77,25	14	3,60	77,28	-	17, 10, 1	12, 6

15	3,57	74,39	15	3,57	74,38	5,42;5,23;3,97;3,6	8	14, 5, 1	13
16	3,41	72,14	16	3,42	72,10	3,72;3,68		12, 11	12, 7
17	3,27	76,76	17	3,27	76,77	4,65;3,77		14, 8, 3	8

Figura 2: Fórmula estrutural da maltose, (4-O- α -D-glicopiranosil-D-glicopiranoze), nas duas formas anoméricas, com caracterização da posição dos carbonos para comparação com os dados das Tabelas 1 e 2.

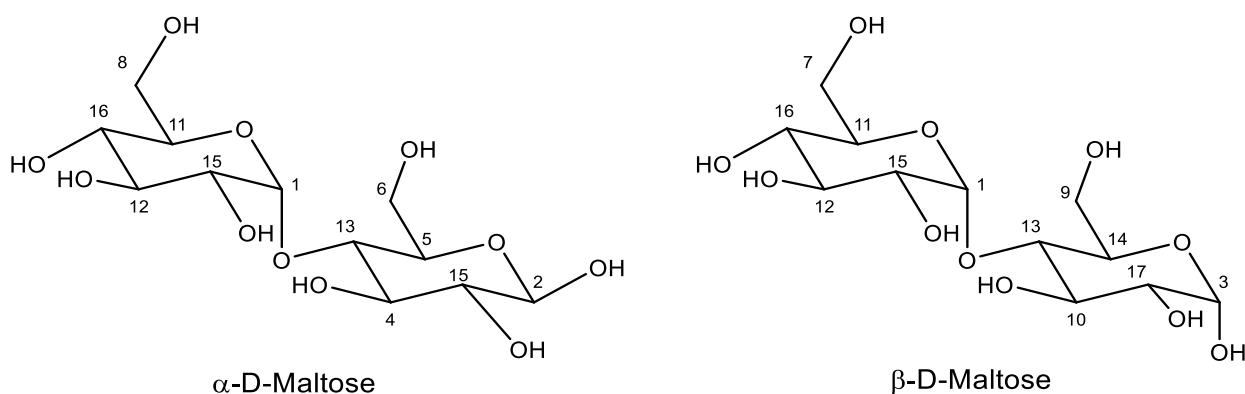


Tabela 2: Assinalamento espectral de RMN do padrão de maltose, em solução preparada neste trabalho.

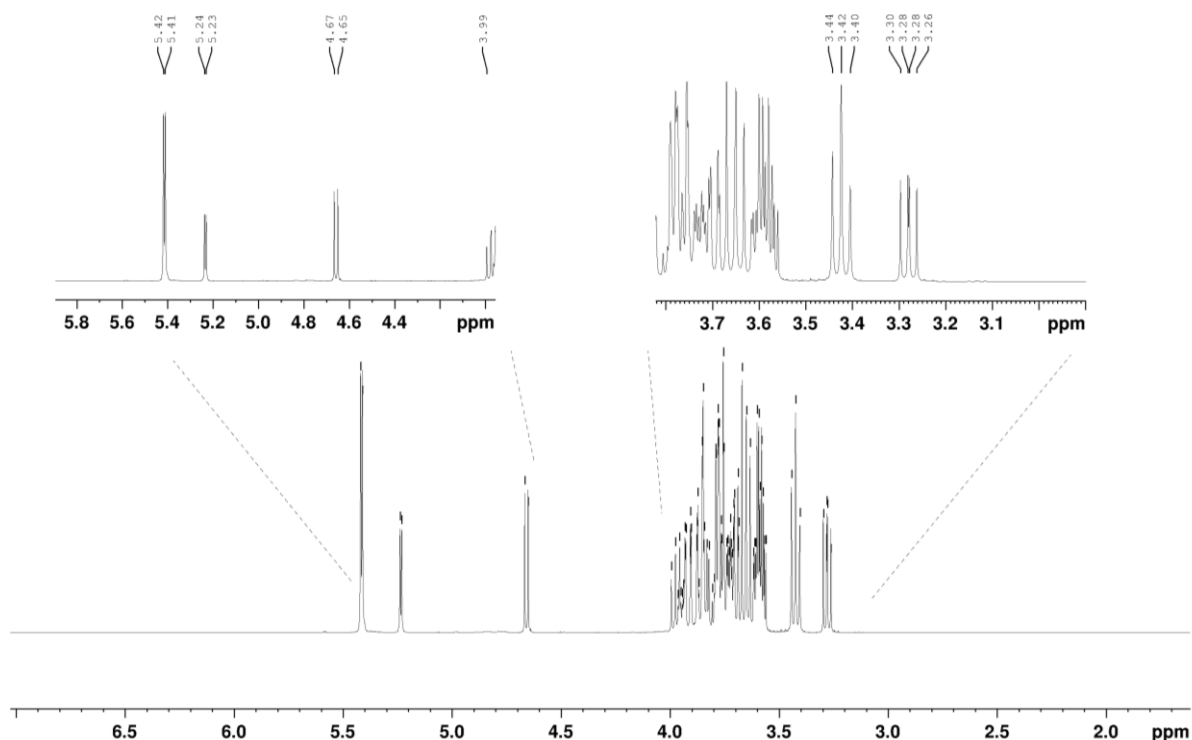
Posição	δ ^1H (ppm) (multiplicidade*, J em Hz)	δ ^{13}C (ppm)	COSY	TOCSY	HMBC
1	5,41 (dl 4,4)	102,46; 102,34	3,58	16, 15, 12	16, 15, 12', 12, 11, 13
2	5,23 (d 3,8)	94,74	3,57	15, 13, 5	15'', 13, 5, 4
3	4,66 (d 8,0)	98,66	3,28	14, 10	14, 10
4	3,95 — 4,00 (m)	76,08	3,58;3,65	15, 13, 2	15'', 13, 6, 2
5	3,93 — 3,97 (m)	72,88	3,65	15	15'', 13, 2
6	3,92 (dd 12,2; 2,0)	63,60	-	15, 13	14, 13
7	3,86 (dd 12,2; 2,0)	63,60	3,74	16, 15, 12, 11	16, 12, 11
8	3,75 — 3,79 (m)	63,45	-	16	-
9	3,75 — 3,79 (m)	63,34	3,60	17, 14, 3	17, 13
10	3,75 — 3,79 (m)	79,07	3,28;3,59	17, 14, 3	17, 13
11	3,70 — 3,74 (m)	75,64	3,86	16, 7, 15, 12	16, 15

12	3,69 (dd 10,0;8,6)	75,76	3,58;3,42	16, 15, 11	16, 15
13	3,63 — 3,67 (m)	79,71	3,77	17, 10, 5	10, 9, 6, 5, 4, 1
14	3,58 — 3,62 (m)	77,44	3,78	10, 3	9, 3
15	3,58 (dd 9,9; 4,0)	74,59	5,41;3,69	16, 11, 1	12',12
16	3,42 (dd 10,2; 8,9)	72,20	3,69;3,74	15, 12, 8, 7, 1	12',12, 8
17	3,28 (dd 9,5; 8,0)	76,88	4,66;3,28	14, 10, 3	10, 3

*Multiplicidades: d, duplete, dd, duplo duplete; dl: duplete largo; m, multiplete.

Na atribuição de sinais do padrão de maltose é possível observar a sobreposição de sinais devido ao equilíbrio de suas formas anoméricas α e β , demonstradas na Figura 1. Os sinais de RMN de ^1H em 5,40 ppm e 3,27 ppm, e seus respectivos sinais de RMN de ^{13}C em 102,28 ppm e 76,76 ppm são comumente atribuídos como marcadores da maltose (Nunes *et al.*, 2025). A apresentação dos dados espectrais completos da maltose padrão pode ser visualizada nas Figuras 3 a 9.

Figura 3: Espectro de RMN de ^1H do padrão de maltose e ampliação dos sinais característicos desta substância.



Nota-se na Figura 3 os sinais em 4,6 a 5,4 ppm, que por estarem longe da região congestionada de sinais comuns de açúcares, poderiam ser bons marcadores de maltose.

No entanto a matriz de méis é também abundantemente constituída de D-glucose, que por sua vez possui sinais muito similares em 4,60 e 5,20 ppm, sobrepondo-se aos da maltose (Wishart *et al.*, 2021).

Figura 4: Espectro de RMN de ^{13}C do padrão de maltose e ampliação dos sinais característicos desta substância em matrizes como mel (Nunes *et al.*, 2025).

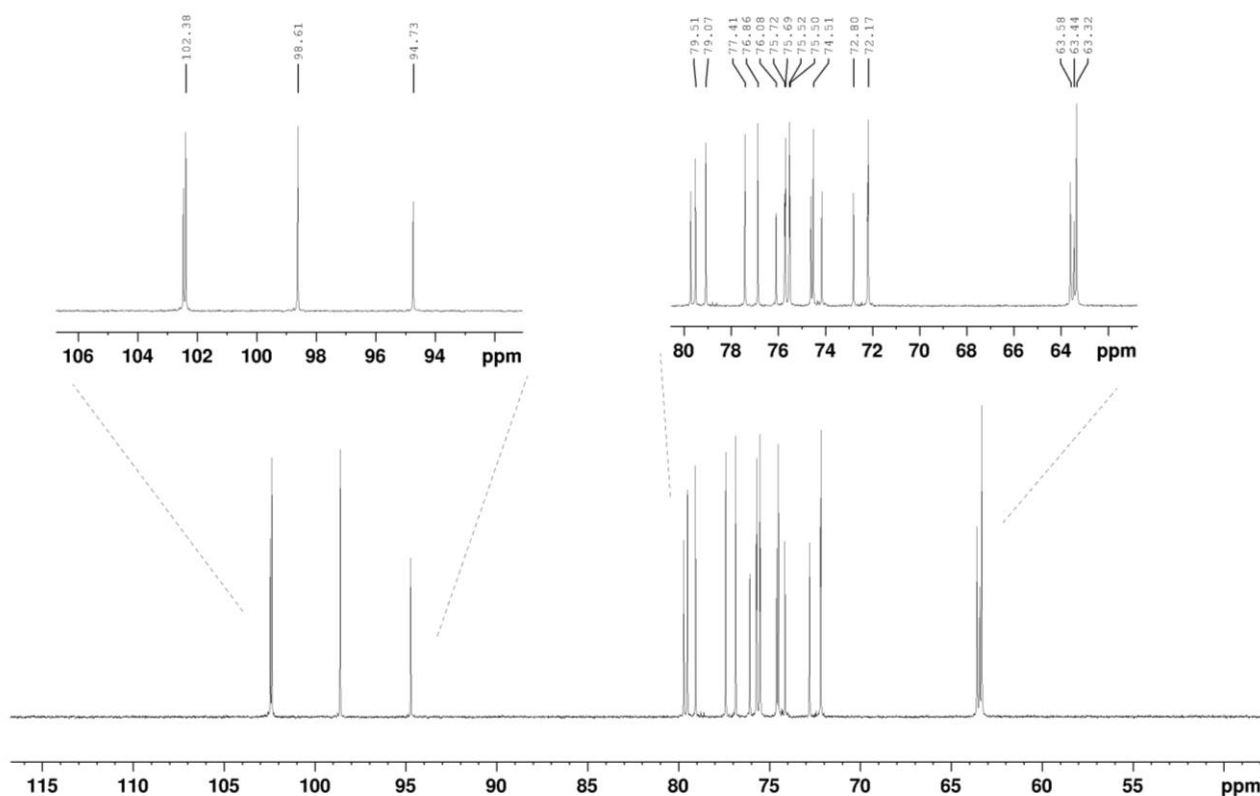


Figura 5: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de HSQC do padrão de maltose com ampliação de 3,00 – 5,60 ppm em F2 e 61 – 105 ppm em F1. Obs. Experimento HSQC sensível à fase, com fase positiva na cor azul e fase negativa, verde.

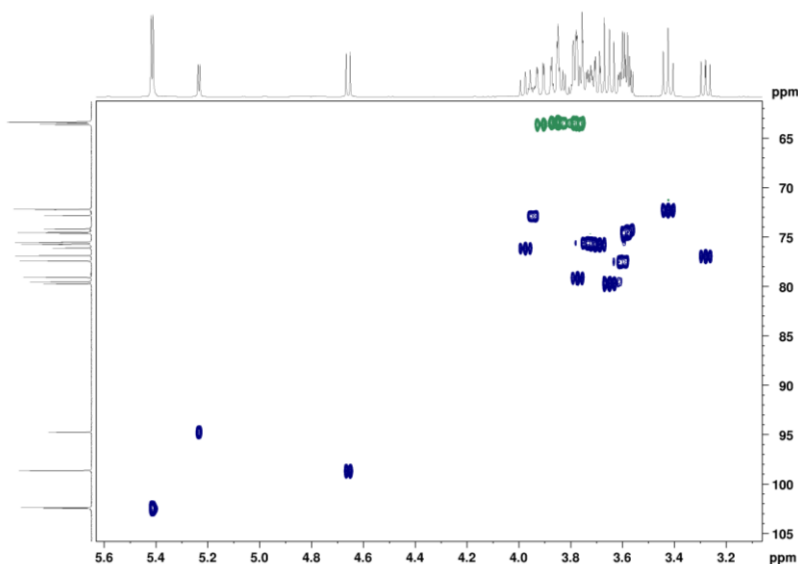


Figura 6: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de COSY do padrão de maltose com ampliação de 3,10 – 5,55 ppm em F2 e 3,00 – 5,73 ppm em F1.

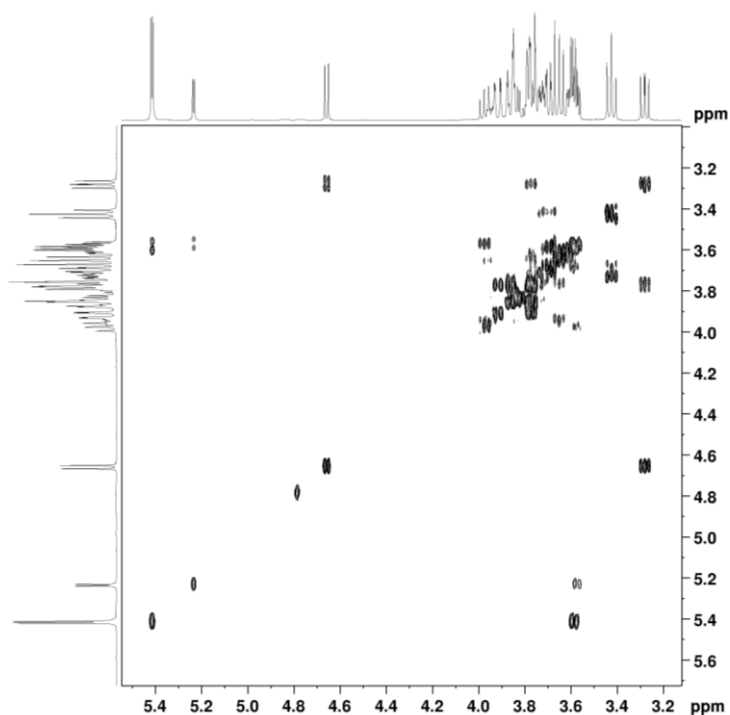


Figura 7: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de TOCSY do padrão de maltose com ampliação de 3,10 – 5,55 ppm em F2 e 3,00 – 5,70 ppm em F1.

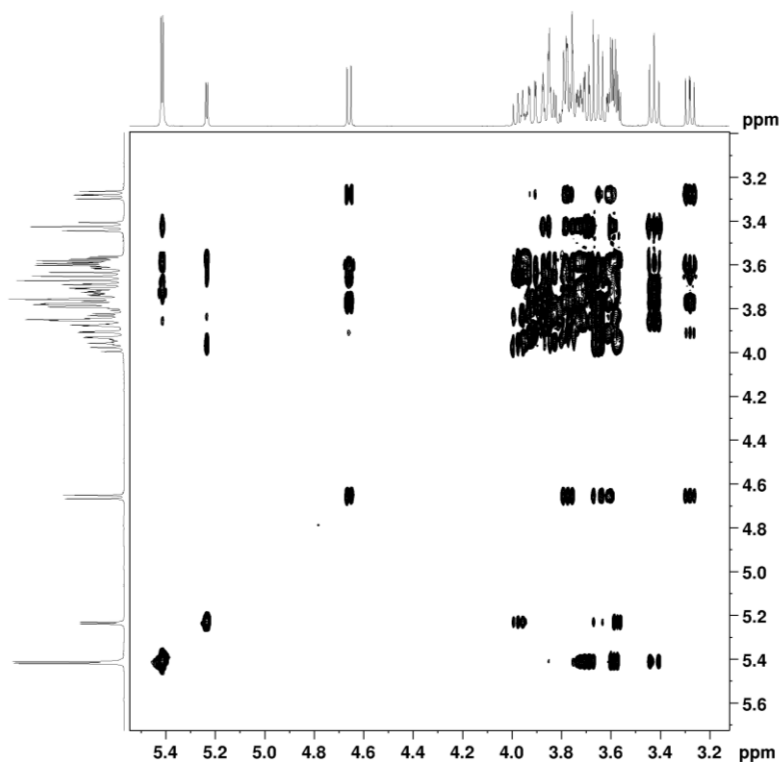


Figura 8: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de HMBC do padrão de maltose com ampliação de 3,00 – 5,60 ppm em F2 e 61 – 105 ppm em F1.

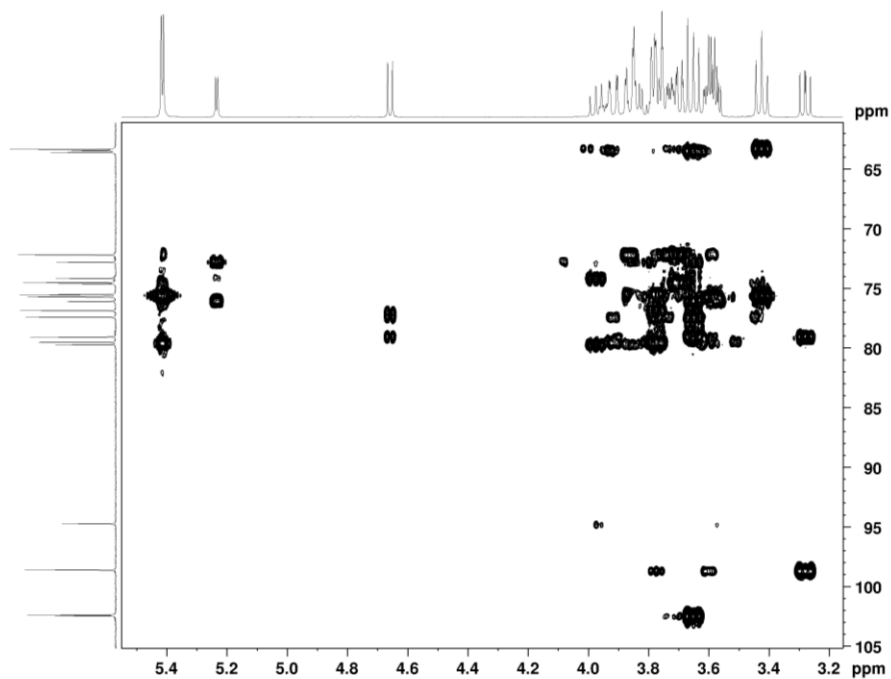
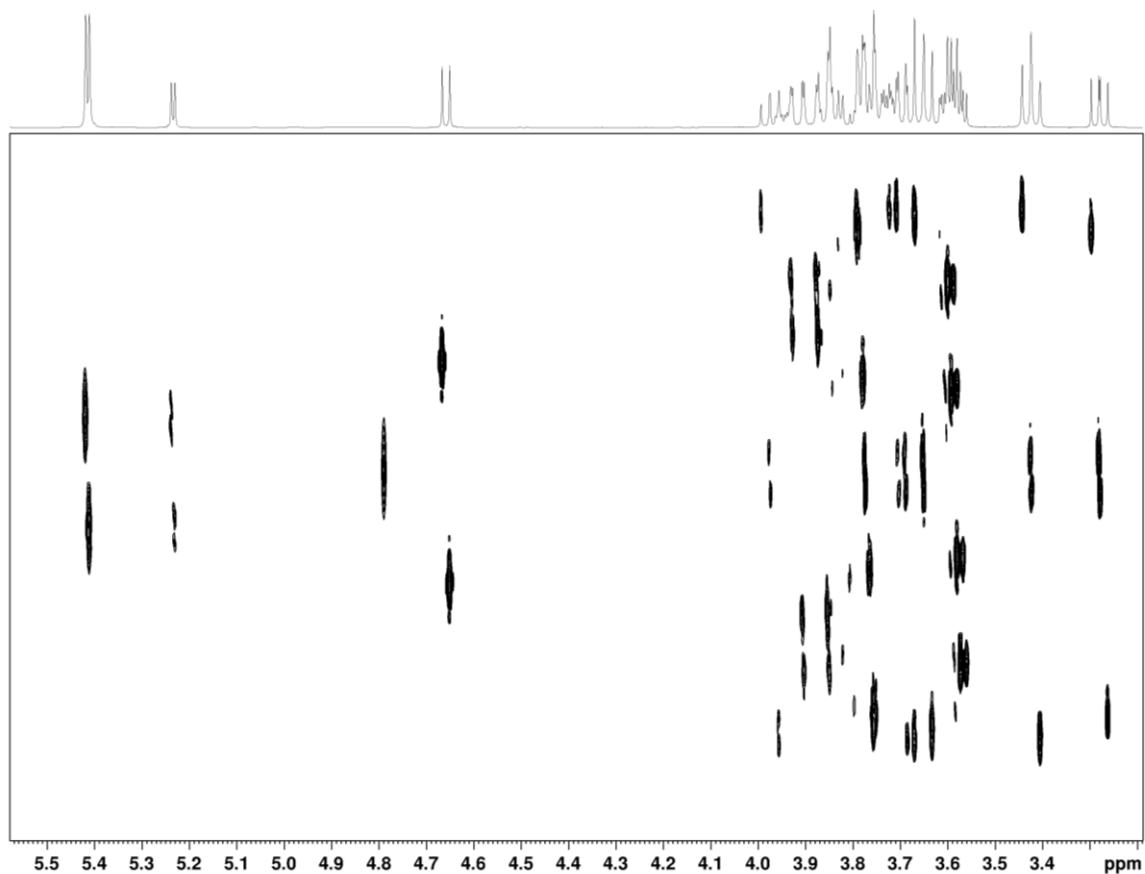


Figura 9: Mapa de correlação obtido a partir do experimento JRes do padrão de maltose com ampliação de 3,00 – 5,60 ppm.



Açúcares em geral se caracterizam por apresentar sinais de 3,0 a 5,0 ppm, dificultando a caracterização somente por espectros de RMN de ^1H devido à similaridade das estruturas, e por fim gera grande sobreposição de sinais como foi observado neste trabalho. Os assinalamentos do padrão de maltose consequentemente se tornaram uma valiosa ferramenta para determinar a presença na matriz de méis de abelha-sem-ferrão em comparação com a trehalulose.

A trehalulose por sua vez é um açúcar com sinais característicos em 5,00 ppm devido a sua ligação glicosídica incomum ($1\rightarrow1$), e que possivelmente foi erroneamente atribuída como maltose em trabalhos anteriores de acordo com Fletcher e colaboradores (2020). Tendo como base essa informação, foi feito o *spiking* de trehalulose nas amostras de mel de *Tetragona clavipes* e *Melipona marginata*. Na Figura 10 é possível observar ambas as amostras e o aumento da intensidade dos sinais.

Figura 10: Exibição múltipla de espectros de RMN de ^1H com *spiking* de trehalulose em amostras de mel de abelha-sem-ferrão de *Tetragona clavipes* (superior) e *Melipona marginata* (inferior) na principal região de marcador (4,90 a 5,06 ppm), correspondente aos sinais dos hidrogênios 1' das formas tautoméricas 1a e 1b apresentadas na Figura 11. Ordem da apresentação dos espectros com adição de trehalulose (*spiking*): azul, nenhuma adição de solução de trehalulose; verde, adição total de 25 μL = 4,17 mg; amarelo-escuro, 50 μL = 8,33 mg; vermelho, 100 μL = 16,67 mg.

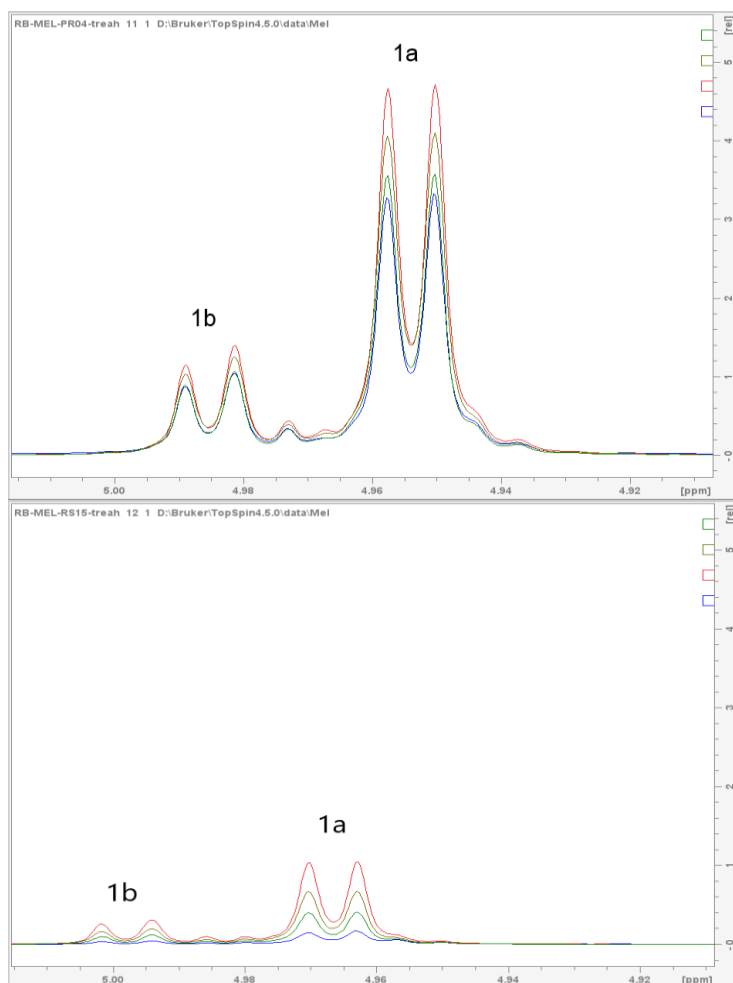


Tabela 3: Assinalamento espectral de RMN da trehalulose, segundo a literatura (Fletcher *et al.*, 2020).

1-O-α-D-glicopiranosil-β-d-frutopiranoose (1a)				1-O-α-D-glicopiranosil-β-d-frutofuranose (1b)			
Anel	Posição	¹ H (ppm) (multiplicidade*, J em Hz)	¹³ C	Anel	Posição	¹ H	¹³ C
Glcp	1'	4,98 (d, 3.7)	99,32	Glcp	1'	5,01 (d, 3.7)	99,32
	2'	3,58 (dd, 9.9, 3.7)	72,28		2'	3,59	72,23
	3'	3,79 (dd, 9.5, 9.2)	73,81		3'	3,76	73,81
	4'	3,44 (dd, 9.8, 9.5)	70,41		4'	3,44	70,29
	5'	3,73 (td, 9.8, 2.5)	72,73		5'	3,72	72,91
	6'	3,88 (dd, 12.2, 2.5) 3.80–3.76 (m)	61,31		6'	3,89	61,35
Frup	1	3,48 (d, 10.3) 3,94 (dl, 10.3)	69,93	Fruf	1	3,56	69,29
	2	-	98,64		2	-	101,69
	3	3,85 (dd, 10.0, 0.9)	68,70		3	4,15	77,11
	4	3,92 (dd, 10.0, 2.0)	70,34		4	4,13	75,19
	5	4,02 (dd, 2.0, 1.6)	69,89		5	3,88	81,49
	6	4,08 (dd, 12.8, 1.0) 3,72 (dd, 12.8, 0.9)	64,35		6	3,81	63,13

Fonte: Fletcher *et al.*, 2020.

*Multiplicidades: d, duplete, dd, duplo duplete; dl: duplete largo; m, multiplete; td, tripleto de dupletos.

Figura 11: Fórmula estrutural dos tautômeros da trehalulose 1-O-α-D-glicopiranosil-β-d-frutopiranoose (1a) e 1-O-α-D-glicopiranosil-β-d-frutofuranose (1b), com caracterização da posição dos carbonos para comparação com os dados das Tabelas 3, 4 e 5.

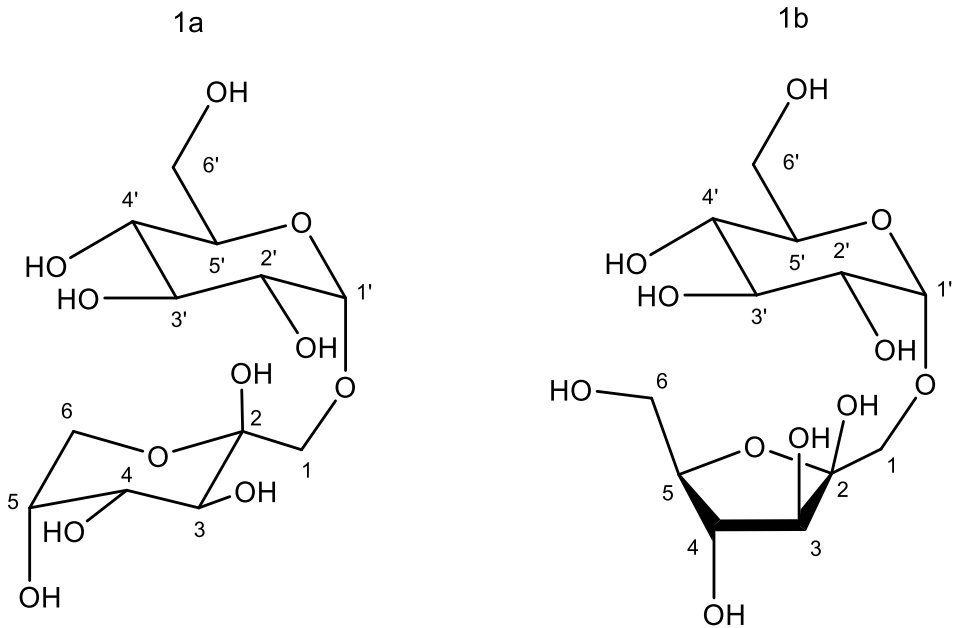


Tabela 4: Assinalamento espectral de RMN do padrão de trehalulose obtido sobre o tautômero 1a, em solução preparada neste trabalho.

Anel	Posição	¹ H (ppm) (multiplicidade*, J em Hz)	¹³ C (ppm)	COSY	TOCSY	HMBC
Glcp	1'	4,97 (dl 3,7)	101,29	3,57	6', 5', 4', 3', 2', 1	1, 5', 3'
	2'	3,57 (dd 9,8; 3,7)	74,26	4,97; 3,77	6', 5', 4', 3', 1'	5', 3', 1'
	3'	3,77 (dd 12,2;5,0)	75,81	3,57; 3,43	6', 5', 4', 2', 1'	4', 2'
	4'	3,43 (dd 10;8,8)	72,32	3,77; 3,70	6', 5', 3', 2', 1'	6', 5', 3'
	5'	3,70 (dd 12,7;2,0)	74,70	3,43; 3,88	6', 4', 3', 2', 1'	2, 1, 6', 4'
	6'	3,87 (dd 12,2;2,2)	63,30	3,77; 3,70	4', 3', 2'	4', 5', 2'
		3,77 (dd 12,2;5,3)	63,32	3,88	5', 4', 2', 1'	2', 4'
Frup	1	3,46 (d 10,2)	71,91	3,93	1', 4	3, 1'
		3,93 (dl d 10,4)	71,91	3,46	6, 3, 1'	3, 2, 1'
	2	-	100,63	-	-	-
	3	3,83 (d 9,9)	70,72	3,91	5, 4	4, 2
	4	3,91 (dd 10;3,4)	72,35	3,83; 4,01	5, 3	3, 2
	5	4,00-4,02 (m)	71,88	3,91	6, 3	6, 4, 3
	6	4,07 (dd 12,8;1,2)	66,35	3,69	5	5, 2, 1
		3,71 (dd 12,8;2,0)	66,38	4,07	5	4, 2, 1

*Multiplicidades: d, duplete, dd, duplo duplete; dl: duplete largo; m, multiplete.

Tabela 5: Assinalamento espectral de RMN do padrão de trehalulose obtido sobre o tautômero 1b, em solução preparada neste trabalho.

Anel	Posição	¹ H (ppm) (multiplicidade*, J em Hz)	¹³ C (ppm)	COSY	TOCSY	HMBC
Glcp	1'	5,00 (dl 3,7)	101,35	3,57	6', 5', 4', 3', 2'	1, 5',3'
	2'	3,57**	74,21	5,00; 3,74	6', 5', 4', 3', 1'	2, 4', 3', 1'
	3'	3,74**	75,70	3,57; 3,43	1'	2'
	4'	3,43**	72,37	3,73; 3,69	-	6'
	5'	3,69**	74,87	3,43; 3,86	6', 4', 3', 2'	3', 6'
	6'	3,86**	63,35	3,69	-	5'
Frufr	1	3,55**	71,26	-	6	2, 3, 2', 1'
	2	-	103,67	-	-	-
	3	4,13**	79,09	-	-	6, 5, 4, 1
	4	4,10**	77,18	3,87	-	6, 5, 3
	5	3,87**	83,46	4,10	3	4
	6	3,79**	65,14	-	3	4, 3, 2

* Multiplicidade: dl, duplete largo. ** Multiplicidades não definidas devido à grande sobreposição de sinais, somada à baixa proporção deste tautômero, inviabilizando a análise do experimento bidimensional JRes.

Com isso é possível observar o que já foi denotado por Fletcher e colaboradores (2020), pois o equilíbrio tautomérico da trehalulose em solução se apresentou no padrão analisado neste trabalho, cuja existência das formas piranose e furanose está na proporção 3,6:1. Os assinalamentos do padrão de trehalulose tiveram detalhes que se assemelham ao trabalho de referência, tais como as multiplicidades de identificação inviável no tautômero 1-O- α -D-glicopiranosil- β -D-frutofuranose (1b). Isso se dá devido a demasiada sobreposição de sinais, principalmente causada pelo equilíbrio tautomérico pois o sinal é diretamente proporcional a concentração molar do analito (Malz & Jancke, 2005), e consequentemente há a necessidade de mais resolução para uma caracterização completa.

Apresenta-se na Figura 12 o espectro de RMN de ^1H da trehalulose padrão e na Figura 13, a ampliação dos hidrogênios 1' dos tautômeros 1a e 1b com destaque à proporção relativa por meio da integral dos sinais. A apresentação dos dados espectrais completos da trehalulose padrão pode ser visualizada nas Figuras 14 a 19.

Figura 12: Espectro de RMN de ^1H do padrão de trehalulose e ampliação dos sinais característicos dessa substância.

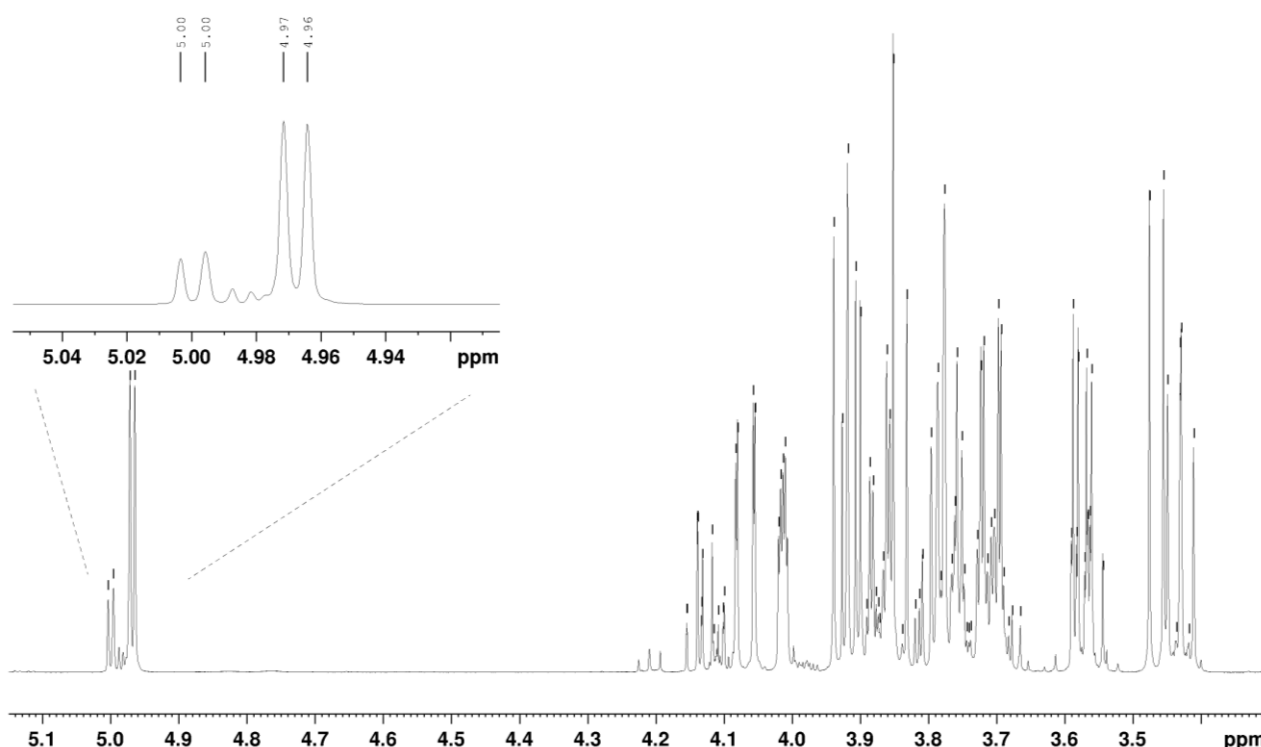


Figura 13: Ampliação do espectro de RMN de ^1H do padrão de trehalulose para a região de 4,90 a 5,06 ppm correspondente aos hidrogênios 1' dos tautômeros 1a (em 4,97 ppm) e 1b (em 5,00 ppm), com destaque à proporção relativa por meio da integral dos sinais marcadores desta substância.

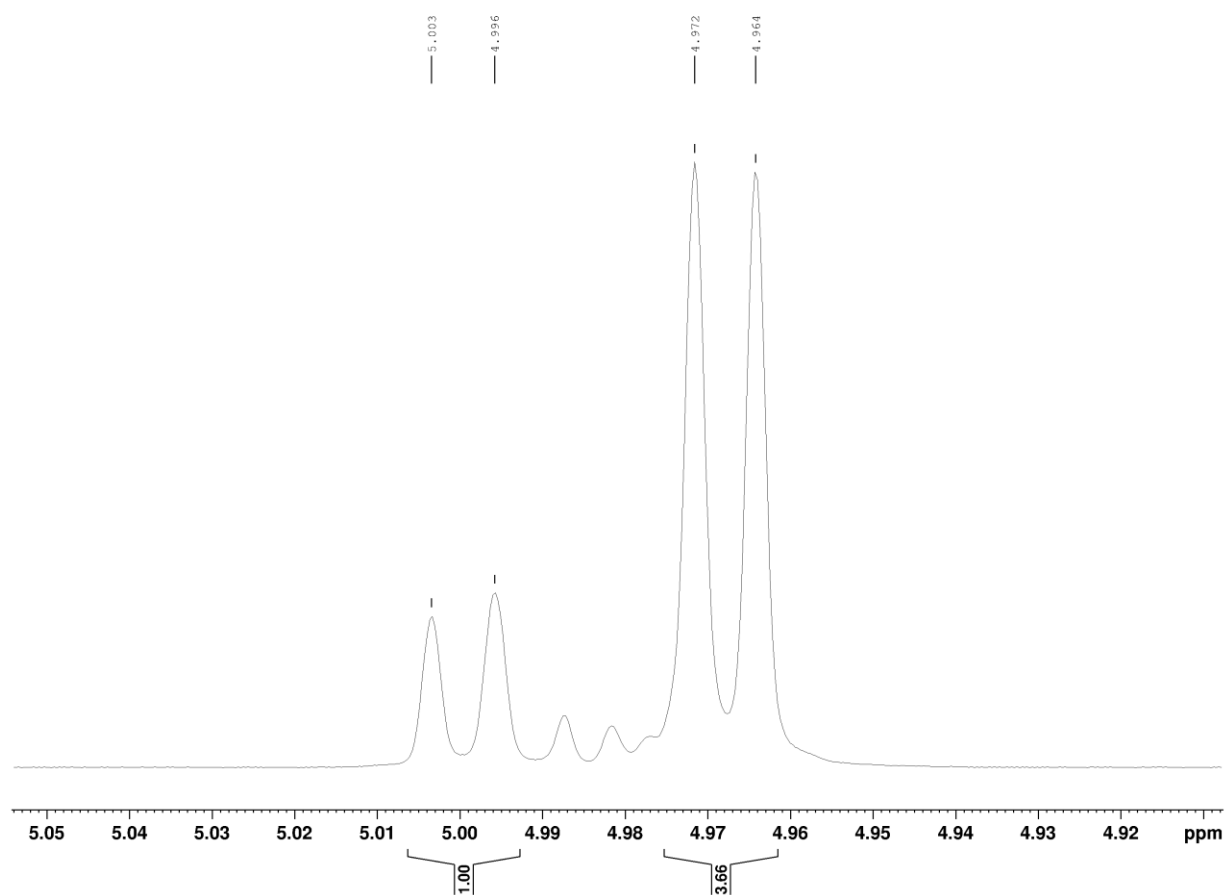


Figura 14: Espectro de RMN de ^{13}C do padrão de trehalulose e ampliação dos sinais característicos dessa substância.

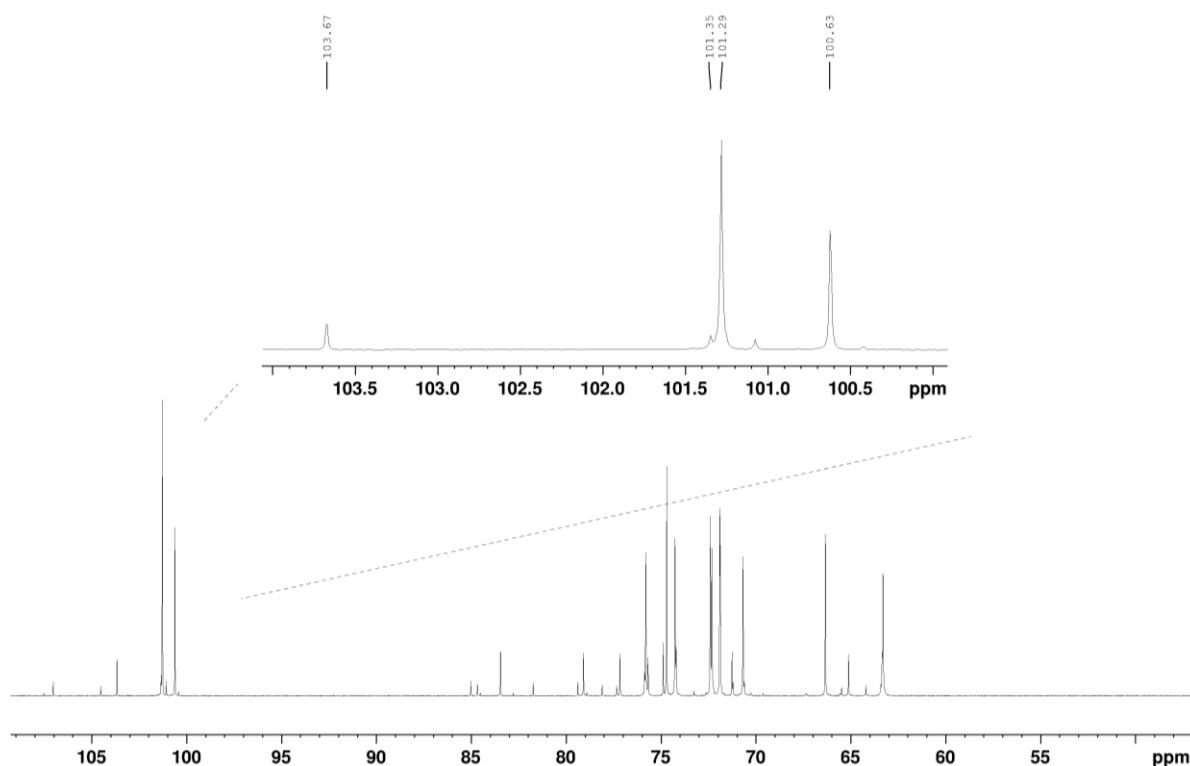


Figura 15: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de HSQC do padrão de trehalulose com ampliação de 61 – 105 ppm em F1 e 3,20 – 5,10 ppm F2. Obs. Experimento HSQC sensível à fase, com fase positiva na cor azul e fase negativa, verde.

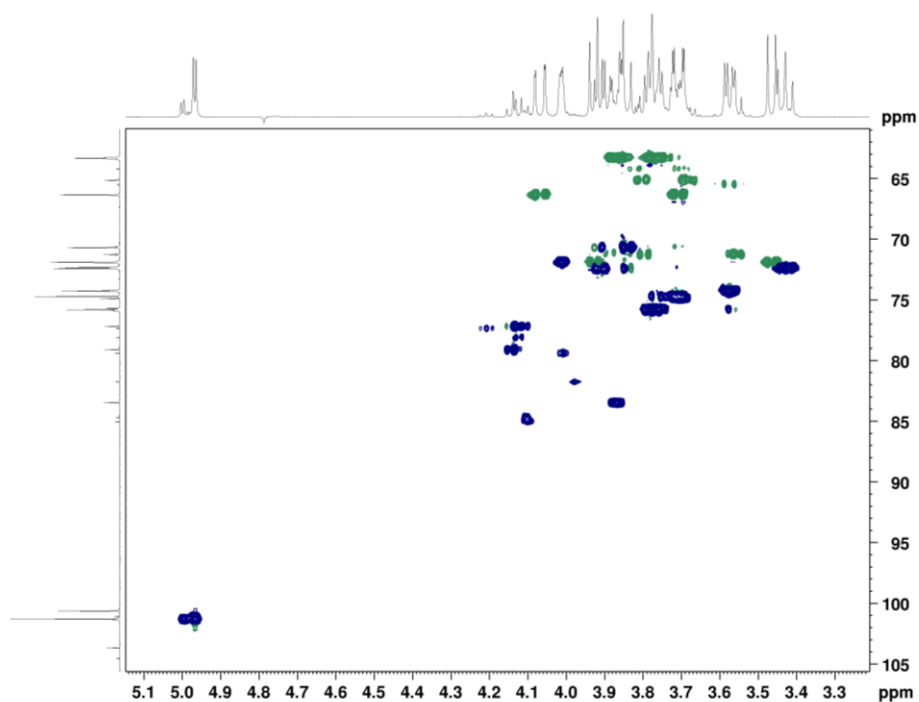


Figura 16: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de COSY do padrão de trehalulose com ampliação de 3,20 – 5,40 ppm em F1 e 3,40 – 5,20 ppm em F2.

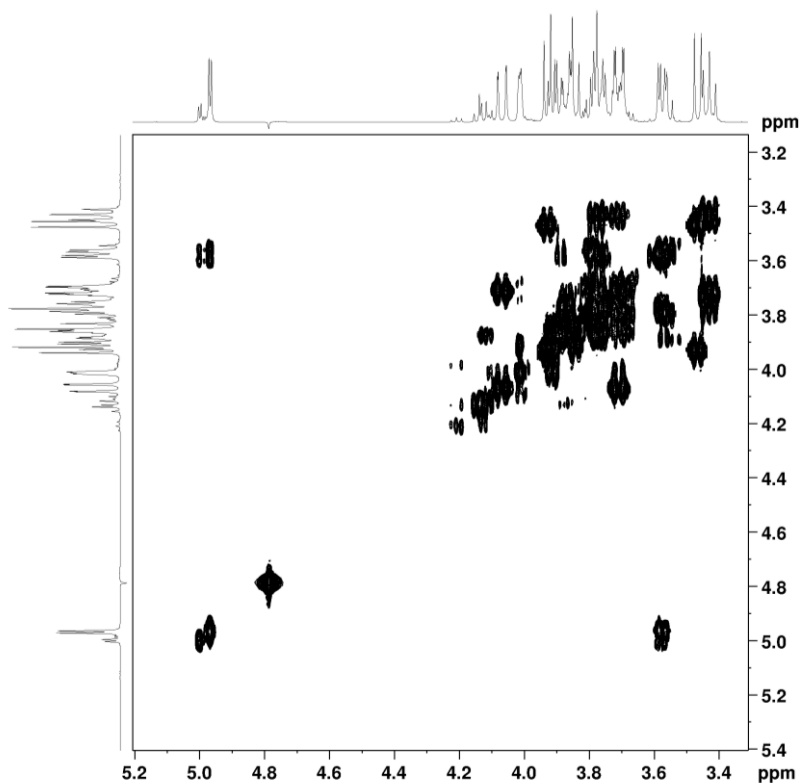


Figura 17: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de TOCSY do padrão de trehalulose com ampliação de 3,20 – 5,40 ppm em F1 e 3,30 – 5,20 ppm em F2.

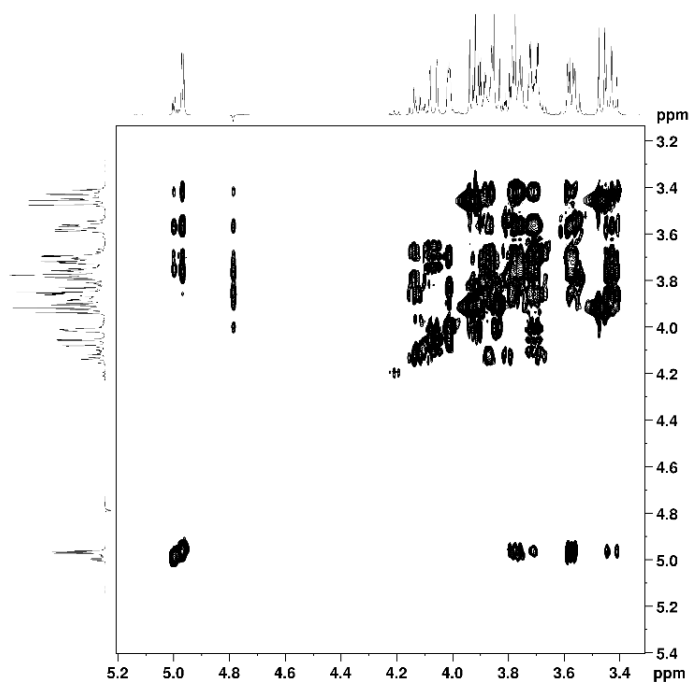


Figura 18: Mapa de correlação obtido a partir do experimento de HMBC do padrão de trehalulose com ampliação de 60 – 110 ppm em F1 e 3,20 – 5,20 ppm em F2.

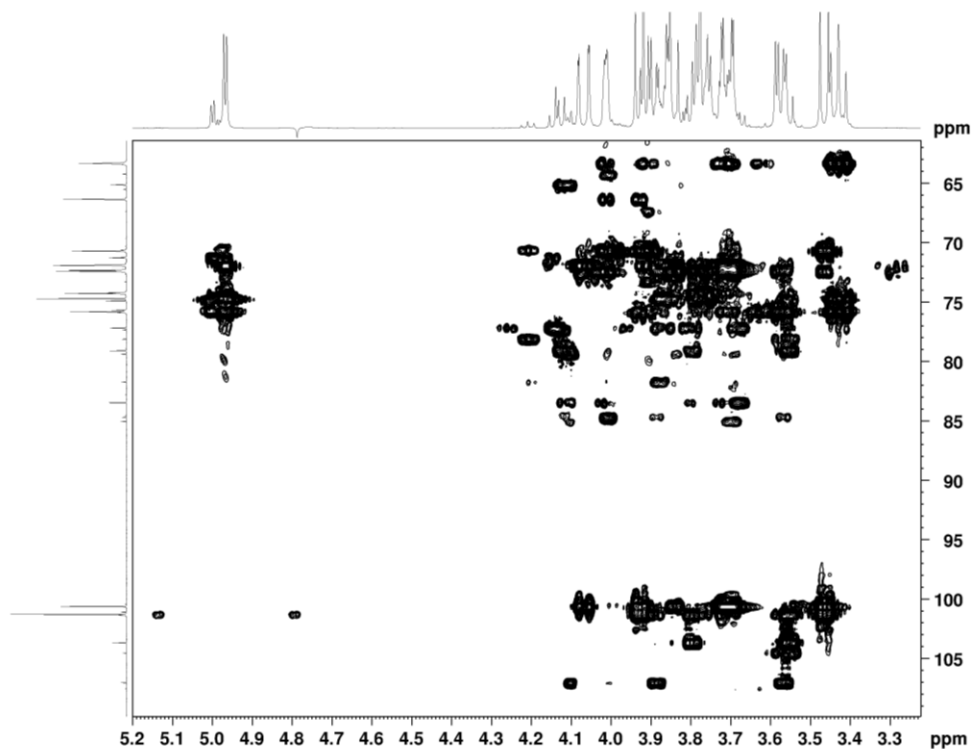
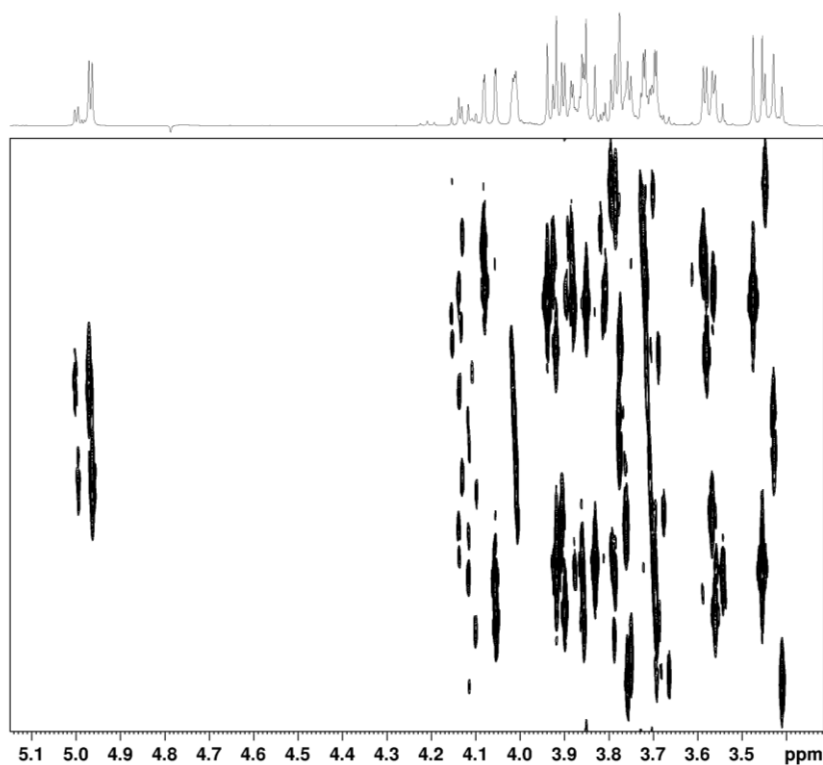


Figura 19: Mapa de correlação obtido a partir do experimento JRES do padrão de trehalulose com ampliação de 3,30 – 5,15 ppm em F1.



A partir dos devidos assinalamentos do padrão de trehalulose neste trabalho, pode-se prosseguir com a aquisição dos espectros de RMN de amostras representativas de méis das duas espécies de abelhas-sem-ferrão (*Tetragona clavipes* e *Melipona marginata*). Durante a execução do trabalho foi encontrado o desafio no preparo de amostras devido à variação de viscosidade dos méis, e na elucidação estrutural por causa da grande sobreposição de sinais na região de açúcares. Nas Figuras 20 e 21 é possível comparar os espectros de ^1H e ^{13}C das amostras de mel de *Tetragona clavipes*, mel de *Melipona marginata*, e padrão de trehalulose.

Figura 20: Espectro de RMN de ^1H das amostras de mel de *Tetragona clavipes* (superior), mel de *Melipona marginata* (ao centro) e padrão de trehalulose (inferior), com ampliações e deslocamentos químicos dos sinais característicos de trehalulose e maltose, e destaque aos sinais de trehalulose.

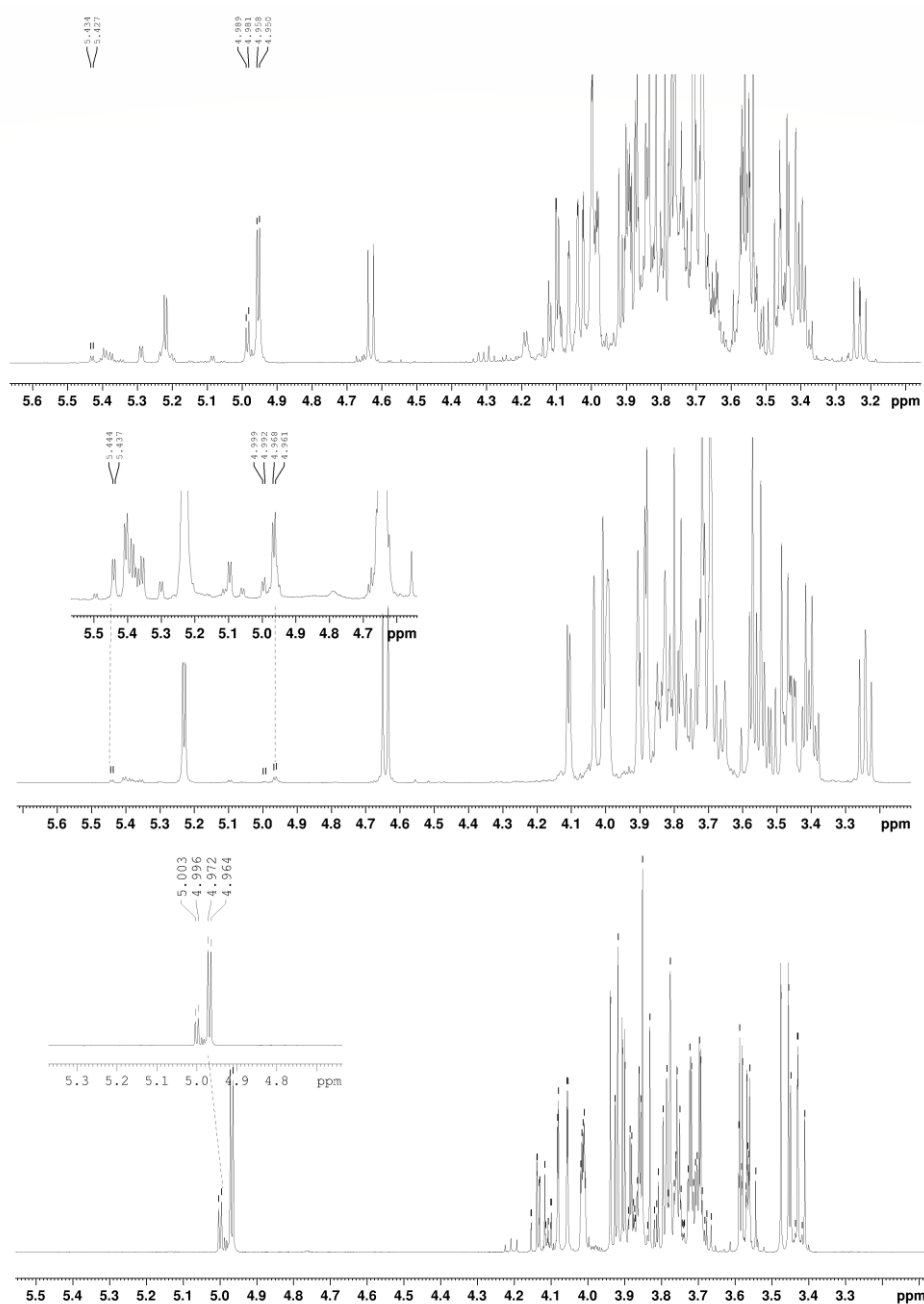
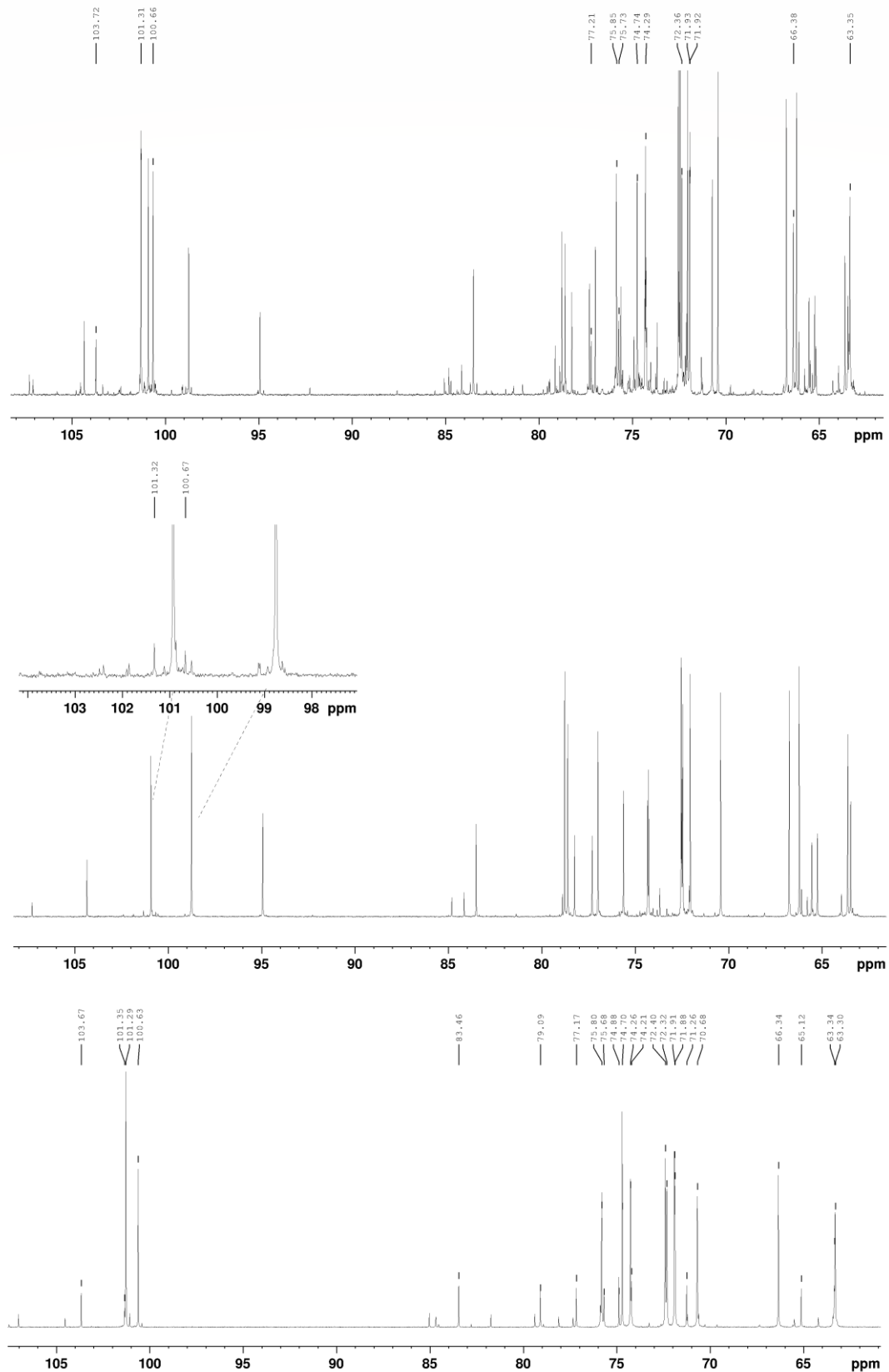


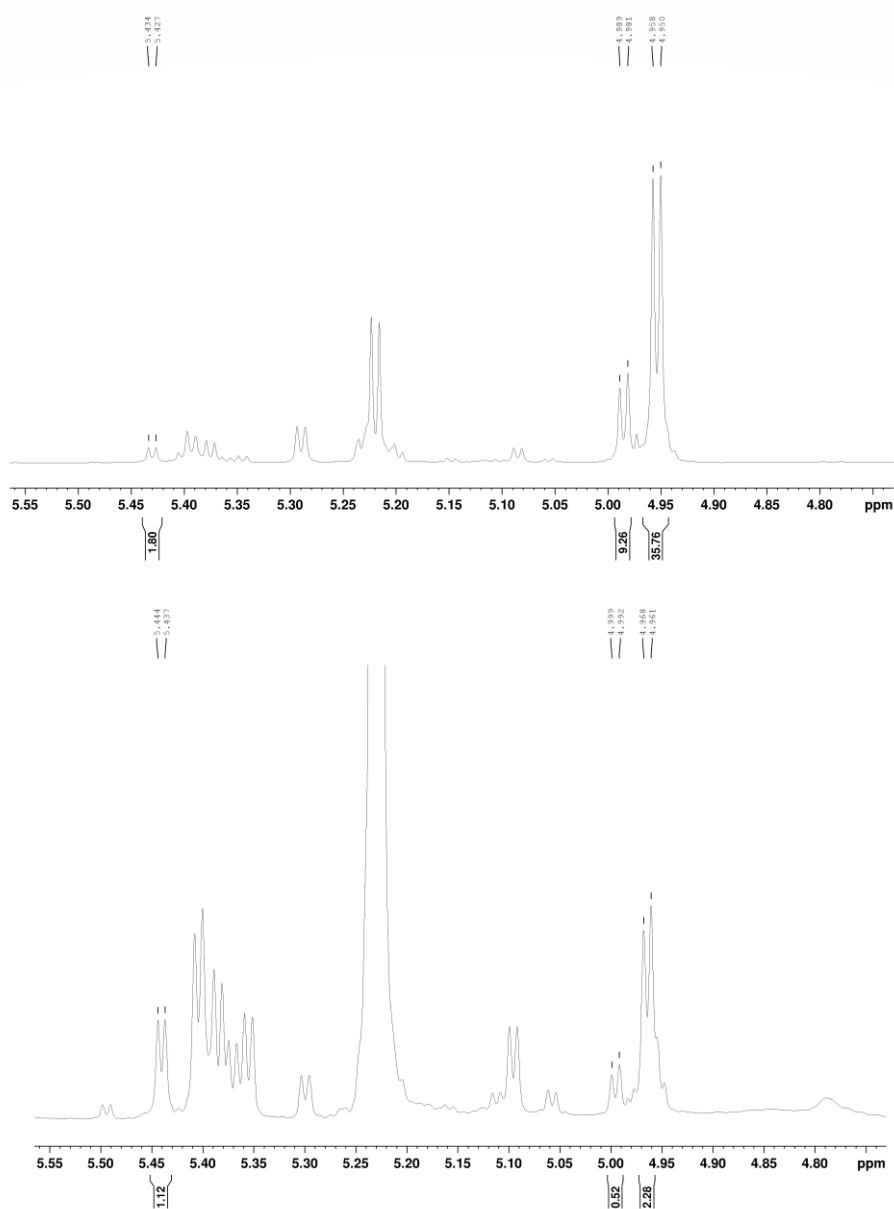
Figura 21: Espectro de RMN de ^{13}C das amostras de mel de *Tetragona clavipes* (superior), mel de *Melipona marginata* (ao centro) e padrão de trehalulose (inferior), com ampliação e deslocamentos químicos dos sinais marcadores de trehalulose e maltose, e destaque aos sinais de trehalulose.



Pode-se claramente apontar a presença de trehalulose em abundância muito maior que maltose na amostra de mel de *Tetragona clavipes*, com a maltose apresentando sinais muito baixos que em razão da sobreposição de sinais próximos e de intensidade semelhante, foi necessária a aplicação de experimentos de RMN bidimensionais. Todavia na amostra de mel de *Melipona marginata* há uma considerável diminuição na intensidade do sinal de trehalulose, evidenciando a menor concentração desse açúcar na espécie. Também é possível constatar a diminuição da intensidade do sinal de maltose, a nível de traços, que novamente foram confirmados por experimentos de RMN bidimensionais.

A proporção relativa realizada a partir da integração dos sinais de maltose e trehalulose, proporcional ao sinal do TMSP-d4, é apresentada na Figura 22.

Figura 22: Espectro de RMN de ^1H das amostras de mel de *Tetragona clavipes* (superior), mel de *Melipona marginata* (abaixo) com ampliação e deslocamentos químicos dos sinais marcadores de trehalulose e maltose, e proporção relativa.



Podemos observar a proporção em mel de *Tetragona clavipes* de 35,76:9,26:1.80 de trehalulose 1a, 1b e maltose, o que corresponde à proporção relativa de 20:5:1, respectivamente. Enquanto no mel de *Melipona marginata*, a proporção encontrada foi de 2,28:0,52:1,12 para trehalulose 1a, 1b e maltose, respectivamente, equivalente à proporção relativa de 2:0,46:1.

6. CONCLUSÃO

Nesse trabalho foi realizada a caracterização estrutural de padrões de maltose e trehalulose, bem como a caracterização desses açúcares em méis de abelhas-sem-ferrão por meio da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear. A técnica demonstrou-se eficaz para distinguir os açúcares e suas proporções relativas. Foi possível constatar os sinais marcadores de trehalulose nas amostras de mel por meio do *spiking*.

A amostra de mel da abelha-sem-ferrão *Tetragona clavipes* apresentou uma proporção relativa consideravelmente maior de trehalulose, reforçando resultados de trabalhos anteriores que evidenciam esse açúcar como um dos majoritários na matriz. A amostra de mel da abelha *Melipona marginata* apresentou proporção menor.

Podemos concluir que o trabalho realizado contribui valiosamente para análise de méis de abelhas-sem-ferrão e do açúcar trehalulose. Com base nos resultados sugere-se que estudos futuros adotem um grupo amostral mais amplo, englobando diferentes regiões geográficas e/ou distintas espécies de abelhas-sem-ferrão, a fim de aprofundar a compreensão dos padrões observados nesta pesquisa.

7. REFERÊNCIAS

ÁVILA, S. et al. Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health-promotion properties and modification detection strategies. **Trends in Food Science and Technology**, v. 81, p. 37–50, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.002>.

BIOLOGICAL MAGNETIC RESONANCE DATA BANK (BMRB). D-(+)-Maltose (C₁₂H₂₂O₁₁). **Madison: University of Wisconsin-Madison**, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.13018/BMSE000017>.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Portaria define normas higiênico-sanitárias e tecnológicas para estabelecimentos que elaboram produtos de abelhas**. Brasília, DF, 18 maio 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/portaria-define-normas-higienico-sanitarias-e-tecnologicas-para-produtos-de-abelhas-e-derivados>.

CHUTTONG, B. et al. Physicochemical profiles of stingless bee (Apidae: Meliponini) honey from South East Asia (Thailand). **Food Chemistry**, v. 192, p. 149–155, 1 fev. 2016.

CLARIDGE, T. D. W. **High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry**. 3. ed. Elsevier, 2016.

FAN, T. W. M. Metabolite profiling by one- and two-dimensional NMR analysis of complex mixtures. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, v. 28, n. 2, p. 161–219, 1 jan. 1996.

FLETCHER, M. T. et al. Stingless bee honey, a novel source of trehalulose: a biologically active disaccharide with health benefits. **Scientific Reports 2020 10:1**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 22 jul. 2020.

HOCH, J. C. et al. Biological Magnetic Resonance Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 51, n. D1, p. D368–D376, 6 jan. 2023.

HUNGERFORD, N. L. et al. Feeding Sugars to Stingless Bees: Identifying the Origin of Trehalulose-Rich Honey Composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 35, p. 10292–10300, 8 set. 2021.

HUMAN METABOLOME DATABASE (HMDB). **D-Glucose**. 2024. Disponível em: https://hmdb.ca/spectra/nmr_one_d/1093.

HUMAN METABOLOME DATABASE (HMDB). **D-Maltose**. 2024. Disponível em: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0034367>.

LIMA, M. A. P. et al. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. **Journal of Comparative Physiology A 2016 202:9**, v. 202, n. 9, p. 733–747, 11 jul. 2016.

MALZ, F.; JANCKE, H. Validation of quantitative NMR. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n. 5, p. 813–823, 10 ago. 2005.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997. 445 p.

NUNES, A. et al. Brazilian honey: Metabolomic analysis and characterization by 1D- and 2D-nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy and chemometrics. **Food Research International**, v. 207, p. 116104, 1 abr. 2025.

RESSUTTE, J. B. et al. Advanced classification of Brazilian stingless bee honey by genus using comprehensive analytical techniques and chemometrics. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 139, p. 107138, 1 mar. 2025.

RESSUTTE, J. B. Mel de Abelha Sem-Ferrão: Aspectos Químicos e Aplicação Tecnológica. 2024. 191 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

REZENDE, A. C. C. et al. Honey botanical origin of stingless bees (Apidae Meliponini) in the Nova América community of the Sateré Mawé indigenous tribe, Amazon, Brazil. **Grana**, v. 59, n. 4, p. 304–318, 3 jul. 2020.

SATO, D. M. et al. Identity and quality standards for brazilian stingless bee honey based on physicochemical parameters – a review. **Ciência e Natura**, v. 45, p. e30–e30, 6 nov. 2023.

SHAMSUDIN, S. et al. Influence of origins and bee species on physicochemical, antioxidant properties and botanical discrimination of stingless bee honey. **International Journal of Food Properties**, v. 22, n. 1, p. 238–263, 1 jan. 2019.

SOUZA, E. C. A.; MENEZES, C.; FLACH, A. Stingless bee honey (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): a review of quality control, chemical profile, and biological potential. **Apidologie**, v. 52, n. 1, p. 113–132, 1 fev. 2021.

WADE, L. G.; SIMEK, J. W. **Organic Chemistry**. 10th ed. Global Edition. [S. l.]: Pearson, 2022. 1400 p.

WISHART, D. S. et al. HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022. *Nucleic Acids Research*, Oxford, v. 50, n. D1, p. D622-D631, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1062>.

ZAIDI, J. A. et al. Analysis of trehalulose in kelulut honey samples via HPLC-MS. **Food Research**, v. 6, n. Supplementary 2, p. 278–283, 30 abr. 2023.

ZHENG, X. et al. Determination of Trehalulose in Stingless Bee Honey by High Performance Liquid Chromatography with Refractive Index Detector. **Food Science**, v. 43, n. 16, p. 217, 25 ago. 2022.

ZHENG, X. et al. A focus on the Chinese stingless bee honey (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): Exploring physicochemical parameters for establishing quality standards. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 137, p. 106823, 1 jan. 2025.

ZULKHAIRI AMIN, F. A. et al. Therapeutic Properties of Stingless Bee Honey in Comparison with European Bee Honey. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, v. 2018, n. 1, p. 6179596, 1 jan. 2018.