

CARACTERIZAÇÃO DE FITOHORMÔNIOS EM MEL MONOFLORAL
DE AROEIRA (*Astronium urundeuva*)CHARACTERIZATION OF PHYTOHORMONES IN MONOFLORAL HONEY
FROM AROEIRA (*Astronium urundeuva*)**Emily Morgana Souza Mendes ****Universidade Estadual de Montes Claros, Departamento de Biologia Geral, Brasil***Pedro Henrique Fonseca Veloso***Universidade Estadual de Montes Claros, Departamento de Biologia Geral, Brasil***Alisson Samuel Portes Caldeira***Instituto René Rachou - Fiocruz Minas, Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Brasil***Tânia Maria de Almeida Alves***Instituto René Rachou - Fiocruz Minas, Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Brasil***Vanessa De Andrade Royo***Universidade Estadual de Montes Claros, Departamento de Biologia Geral, Brasil*** Autor correspondente**e-mail: emimendes25@gmail.com*

Received 22 November 2024; received in revised form 3 April 2025; accepted 29 April 2025

RESUMO

Introdução: O mel é uma solução natural açucarada e viscosa, elaborada a partir do néctar floral, secreções de partes vivas de plantas ou por insetos sugadores de seiva. Os aspectos químicos do mel de aroeira têm papel relevante na bioeconomia e na pesquisa da cadeia produtiva do norte de Minas Gerais. Os fitohormônios são destaque em diversos estudos sobre a composição de méis, com ocorrência natural em amostras de méis e néctar floral. **Objetivos:** O objetivo foi identificar fitohormônios no mel de aroeira por LC-HRMS, analisando fragmentogramas e espectros por bioinformática, software sirius, e manual de inspeção. **Métodos:** Uma amostra do mel foi coletada da COPEMAPI. Foi utilizado para análise LC-HRMS água ultrapura tipo 1, metanol 99%, acetato de etila, solução de cloreto de sódio (NaCl) a 2%, sulfato de sódio (Na₂SO₄), ácido fórmico, acetonitrila, formiato de sódio, 2-propanol. Sistema Nexera UHPLC, espectrômetro de massa MaXis ETD com ESI-Q-TOF, coluna: Shimpack XR-ODSIII (C18, 150×2,0 mm, 2,2 µm). A caracterização de dominância polínica do mel avanço dos padrões e métodos propostos na literatura e assim como a realização do LC-HRMS. **Resultados:** O mel analisado é monofloral, composto por 94,34% de pólen de *Astronium urundeuva* e 5,66% de *Eucalyptus robusta*. Os resultados obtidos neste estudo revelaram a presença de 3 fitohormônios na amostra de mel demonstrada. O ácido abscísico (ABA) e seus isômeros, o vomifoliol e o roseosídeo, todos situados em modo de ionização positiva. **Discussão:** Dados de fragmentação obtidos trazem o perfil de fragmentograma dos fitohormônios, o roseosídeo é inédito para essa matriz. Estudo mostra que o ABA também é sintetizado por células de mamíferos e foi associado a doenças humanas. O vomifoliol e o roseosídeo são derivados do ABA e tem diversas funcionalidades, como, aumento da proliferação de insulina e efeito de despigmentação em melanócitos. **Conclusões:** Uma especificação detalhada desses compostos apresentados a riqueza do mel. A descoberta do roseosídeo, com reconhecidas propriedades antioxidantes, reforça a relevância deste mel não apenas para a apicultura, mas também para aplicações terapêuticas.

Palavras-chave: *Astronium urundeuva*; Extração líquido-líquido, Compostos fitoquímicos; Melissopalínologia; Roseosídeo.

ABSTRACT

Background: Honey is a natural, sugary, and viscous solution elaborated from floral nectar, secretions from living parts of plants, or by sap-sucking insects. The chemical aspects of aroeira honey play a relevant role in the bioeconomy and research of the production chain in northern Minas Gerais. Phytohormones are highlighted in

various studies on honey composition, with natural occurrence in honey samples and floral nectar. **Aims:** The aim was to identify phytohormones in aroeira honey by LC-HRMS, analyzing fragmentograms and spectra through bioinformatics, Sirius software, and manual inspection. **Methods:** A honey sample was collected from COPEMAPI. Type 1 ultrapure water, 99% methanol, ethyl acetate, 2% sodium chloride (NaCl) solution, sodium sulfate (Na₂SO₄), formic acid, acetonitrile, sodium formate, and 2-propanol were used for LC-HRMS analysis. Nexera UHPLC system, MaXis ETD mass spectrometer with ESI-Q-TOF, column: Shimpack XR-ODSIII (C18, 150×2.0 mm, 2.2 μm). The characterization of honey pollen dominance followed standards and methods proposed in the literature, as well as the LC-HRMS analysis. **Results:** The analyzed honey is monofloral, composed of 94.34% pollen from *Astronium urundeuva* and 5.66% from *Eucalyptus robusta*. The results obtained in this study revealed the presence of 3 phytohormones in the honey sample. Absciscic acid (ABA) and its isomers, vomifoliol and roseosides, all situated in positive ionization mode. **Discussion:** Fragmentation data obtained show the fragmentogram profile of phytohormones, with roseosides being novel for this matrix. Studies show that ABA is also synthesized by mammalian cells and has been associated with human diseases. Vomifoliol and roseoside are derivatives of ABA and have various functionalities, such as increasing insulin proliferation and depigmentation effects on melanocytes. **Conclusions:** A detailed specification of these compounds presents the richness of the honey. The discovery of roseoside, with recognized antioxidant properties, reinforces the relevance of this honey not only for beekeeping but also for therapeutic applications.

Keywords: *Astronium urundeuva*; Liquid-liquid extraction, Phytochemical compounds; Melissopalynology; Roseoside.

1. INTRODUÇÃO

O mel é uma solução natural açucarada e viscosa, elaborada a partir do néctar floral, secreções de partes vivas de plantas ou por insetos sugadores de seiva (Hossain *et al.*, 2022). Possui uma composição rica em açúcares, e em menores concentrações ácidos orgânicos, compostos fenólicos, aminoácidos, enzimas, pigmentos, minerais, vitaminas, e outros fitoconstituintes (Das *et al.*, 2015).

Alguns méis são destaque em determinadas regiões, principalmente pelas características únicas atribuídas a estes, como é o caso do mel de melada de Bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) (Bergamo *et al.*, 2019) no sul do Brasil, e o mel de aroeira (*Astronium urundeuva*) produzido no norte de Minas Gerais. Esse por sua vez reconhecido por meio da Indicação Geográfica (IG) (Demier *et al.*, 2020), possuindo características próprias, como cor âmbar escuro e alto teor de fenólicos (Royo *et al.*, 2022; Pena-júnior *et al.*, 2022).

Os aspectos químicos do mel de aroeira têm papel relevante na bioeconomia e na pesquisa da cadeia produtiva do norte de Minas Gerais. Pois além da importância econômica, possui importância científica, uma vez que é mel misto entre floral e melado, ou seja, é oriundo de néctar floral e secreções oriundas do psíldeo inseto presente apenas na aroeira (Demier *et al.*, 2020), o que o confere um aspecto diferente e marcante a esse produto. Além disso, a própria delimitação de monofloral pode conferir maior destaque ao produto. Seguindo as diretrizes de

Barth (1989), para a classificação do mel de acordo com a porcentagem de pólen, sem representatividade maior que 44% são caracterizados como multifloral, quando a porcentagem de pólen representativo varia de 45% a 89% é caracterizado como floração dominante e 90% caracterizado como monofloral.

Estudos sobre o mel de aroeira do sertão têm sido realizados, no qual encontram-se dados sobre seu conteúdo de fenólicos, atividade antioxidante e antibacteriana (Oliveira *et al.*, 2020). Contudo, pouco se sabe sobre a composição química deste, como a presença de fitohormônios.

Os fitohormônios são destaques em diversos estudos sobre a composição de méis, com ocorrência natural em amostras de méis e néctar floral (Ferrerres *et al.*, 1996). Em alguns casos os fitohormônios são classificados como marcadores bioquímicos de determinados méis (Nunes *et al.*, 2023). Incluídos a isso, podem determinar a autenticidade da amostra, refletindo as características únicas dos méis.

Essas substâncias são um grupo de metabólitos naturais que influenciam processos fisiológicos mesmo em baixas concentrações (Wang *et al.*, 2017). Com base na diversidade e funções fisiológicas, os fitohormônios são divididos em vários grupos, incluindo etileno, auxinas, citocininas (CKs), giberelinas (GAs), ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (SA), ácido jasmônico (JA), brassinosteroides (BRs), peptídeos sinalizadores e estrigolactonas (SLs) (Lin *et al.*, 2011). Sabe-se que esses grupos de metabólitos desempenham funções diversas na saúde humana, como ação antienvhecimento

(Rattan *et al.*, 2005), atividade imunomoduladora (Slavikova *et al.*, 2008) e neuroprotetora (Michelini *et al.*, 2004).

Este estudo teve como objetivo identificar fitohormônios no mel de aroeira por LC-HRMS, analisando fragmentogramas e espectros por bioinformática, software sirius, e inspeção manual, com base na *m/z* dos íons precursores dos compostos e dos íons produtos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS:

2.1. Materiais

2.1.1. Amostra do mel

A amostra de mel monofloral de Aroeira foi coletada no entreposto da Cooperativa dos Apicultores e Agricultores Familiares do Norte – COOPEMAPI no ano de 2022. A amostra estava acondicionada em ambiente a 25 ± 2 °C, ao abrigo de luz, em tambores de armazenamento adequados para mel.

2.1.2. Reagentes para análise melissopalínológica

Água deionizada, gelatina incolor (Neon, Brasil), glicerina (Neon, Brasil).

2.1.3. Reagentes para análise LC-HRMS

Água ultrapura tipo 1 (Direct 8, Milli-Q), metanol 99%, acetato de etila, solução de cloreto de sódio (NaCl) a 2%, sulfato de sódio (Na₂SO₄), ácido fórmico, acetonitrila, formiato de sódio, 2-propanol. Todos os solventes grau LC-MS foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Missouri, EUA), Merck (Darmstadt, Alemanha) e Millipore (Massachusetts, EUA).

2.1.4. Equipamentos

2.1.4.1. Equipamentos para preparo da amostra

SpeedVac (Thermo Fisher Scientific, EUA), banho-maria (para aquecimento a 45 °C), misturador Vortex, balança analítica, microtubos safe-lock, frascos de polipropileno, algodão para filtração e microscópio óptico.

2.1.4.1. Sistema LC-HRMS

Nexera UHPLC (Shimadzu, Japão), espectrômetro de massa MaXis ETD (Bruker, EUA) com ESI-Q-TOF, coluna: Shimpack XR-

ODSIII (C18, 150×2,0 mm, 2,2 µm) (Shimadzu, Japão).

2.2 Métodos

2.2.1. Análise melissopalínológica

A caracterização da dominância polínica do mel seguiu os métodos padronizados propostos por Barth (1989) e Louveaux *et al.* (1978). Para o preparo das lâminas, 10 g de mel foram dissolvidos em 20 mL de água deionizada. A solução foi centrifugada a 2.500 rpm por 10 minutos (Eppendorf, Alemanha), e o sobrenadante foi descartado. O sedimento (pellet) resultante foi incorporado em gelatina glicerínica não corada, e as lâminas foram examinadas em microscópio óptico (Zeiss, Alemanha). As análises melissopalínológicas foram realizadas conforme os procedimentos descritos por Barth (1989), utilizando a coleção de referência da PROBEE Ltd. Os resultados foram expressos como percentual de dominância dos tipos polínicos, sendo classificados como mel monofloral dominante quando apresenta >45% de um único tipo polínico, e monofloral puro quando a dominância é >90%.

2.2.2. Processo de preparação da amostra

Devido à alta viscosidade do mel, as amostras foram previamente aquecidas em banho-maria a 45 °C. Em seguida, preparou-se uma solução de cloreto de sódio (NaCl) a 2% (p/v), dissolvendo-se 1 g de NaCl em 50 mL de água ultrapura. Para facilitar a dissolução e posterior extração, foram adicionados 5 mL da solução salina a 5 g de mel. A mistura resultante foi homogeneizada em vórtice por 10 segundos e, posteriormente, submetida a três extrações líquido-líquido consecutivas, cada uma utilizando 5 mL de acetato de etila. A fase orgânica obtida foi tratada com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) como agente dessecante, seguida por agitação e filtração através de algodão. Por fim, a solução filtrada foi concentrada até secar utilizando um sistema SpeedVac (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA), obtendo-se assim a amostra concentrada para análise (Figura 1).

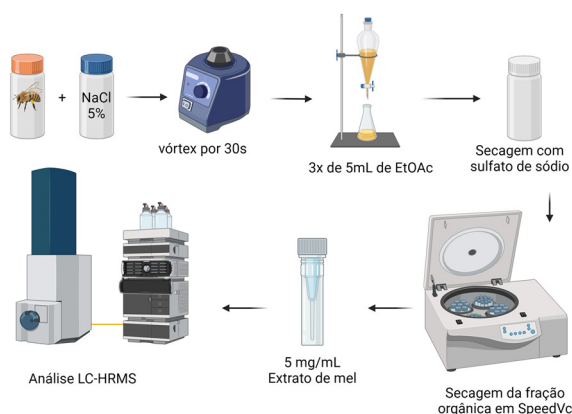


Figura 1. Processo de preparação da amostra ilustrativa.

Fonte: o autor

2.5. Instrumentos, condições analíticas e anotações LC-HRMS

Para a realização da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (LC-HRMS), utilizou-se a metodologia previamente validada e utilizada pelo grupo de pesquisa (Acácio *et al.*, 2023).

No qual 5 mg do extrato foram solubilizados em metanol e água na proporção 3:2, em microtubos tipo safe lock. Fez-se o acondicionamento da amostra em vials de polipropileno com a concentração final de 5.0 mg. mL⁻¹, então 50 µL da solução foi levado a rack do amostrador automático do LC-HRMS (SOARES-BEZERRA *et al.*, 2019).

As análises de LC-HRMS ocorreram em sistema Nexera UHPLC (Shimadzu, Japão) acoplado a espectrômetro de massas com ionização por electrospray e detecção do tipo quadrupolo/tempo de voo (ESI-Q-TOF) de alta resolução MaXis ETD (Bruker, Estados Unidos da América) e controlado pelo pacote de software Compass 1.5 (Bruker, Estados Unidos da América).

Alíquotas de 2 µL foram injetadas em uma coluna Shimpack XR-ODSIII (C18, 150×2.0 mm, 2.2 µm) (Shimadzu, Japão) a 40°C sob uma taxa de fluxo de 400 µL.min⁻¹. As fases móveis A e B acidificadas com ácido fórmico (0.1% de ácido fórmico em A e B) respectivamente, foram empregadas em uma eluição em modo gradiente a 5% B por 5 min até 100% B em 60 min. Os espectros de massas foram adquiridos no modo de ionização positivo a uma taxa espectral de 5.0 Hz. Os parâmetros da fonte de íons foram ajustados para -500 V de end plate offset,

voltagem do capilar de 4.500 V, pressão do nebulizador de 3.0 Bar, e fluxo e temperatura do gás de secagem de 8.0 L.min⁻¹ e 200°C, respectivamente. Espectros de fragmentação foram adquiridos em modo dependente de dados (MS/MS automatizado) usando uma rampa de energia de colisão entre 12 e 60 eV. As configurações do resfriador de íons foram otimizadas para uma faixa de 100-1500 m/z usando uma solução calibrante de formiato de sódio 1 mM em 2-propanol 50% (Sigma-Aldrich, Estados Unidos da América). A calibração de massas ocorreu por meio de infusão inicial de solução calibrante (20 µL) na fonte de íons e recalibração pós-aquisição dos dados brutos. Fez-se a detecção do composto por dissecação de pico cromatográfico com subsequente determinação da fórmula conforme a massa exata e o padrão isotópico (MS1). A identificação putativa foi baseada na comparação dos espectros de fragmentação dos compostos (MS2) com espectros de referência de substâncias padrão provenientes do banco de dados in-house público MassBank (HORAI *et al.*, 2010) Centro de Pesquisa René Rachou - CPqRR, assim como buscas em bibliotecas públicas, em literatura disponíveis e anotação por meio do software Sirius (Lehrstuhl Bioinformatik Jena, versão 5.7.2) em scores acima de 90% de confiabilidade.

2.6. Identificação de compostos

As substâncias foram identificadas usando duas abordagens: (1ª) interpretação manual e (2ª) identificação auxiliada por software pelo SIRIUS. Para identificação manual, foi baseado na comparação de espectros de fragmentação de compostos (MS2) com espectros de referência de substâncias padrão do banco de dados público interno MassBank (Horai *et al.*, 2010) Centro de Pesquisa René Rachou - CPqRR, bem como buscas em bibliotecas públicas e literatura disponível. O software SIRIUS (versão 5.7.2) foi baixado do site Lehrstuhl Bioinformatik Jena (<https://bio.informatik.unijena.de/software/sirius/>). Os arquivos brutos foram extraídos diretamente do software de análise LC-HRMS Data Analysis 4.4 (Bruker, Alemanha). Para calcular fórmulas moleculares, o tipo de instrumento foi definido como Q-TOF, a precisão da massa foi definida como 10 ppm, e a possível ionização foi selecionada como [M+H]⁺ e [M+Na]⁺.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Resultados

3.1.1. Melissopalinologia

As análises melissopalinológicas indicaram que o mel analisado é monofloral, composto por 94,34% de pólen de *Astronium urundeuva* e 5,66% de *Eucalyptus robusta*.

3.1.2. LC-HRMS

O objetivo deste trabalho foi analisar dados cromatográficos obtidos do mel de aroeira. O estudo foi conduzido por meio de ensaio, no qual foi feita a varredura da amostra com ionização por eletrospray (ESI) em modo de ionização positiva, devido a amplitude de substâncias que podem ser ionizadas, em especial os fitohormônios.

Os resultados obtidos neste estudo revelaram a presença de 3 fitohormônios na amostra de mel analisada. O ácido abscísico (ABA) e seus isômeros, vomifoliol e o roseosídeo, todos estando em modo de ionização positiva conforme descrito na Tabela 1.

Os espectros de varredura analisados possuíam íons precursores predominantes em m/z 265 para o ABA, m/z 225 para o vomifoliol e m/z 387 para o roseosídeo, todos com seus respectivos íons de produtos já caracterizados na literatura.

3.2. Discussões

Os dados de melissopalinologia confirmam a monofloralidade do mel de aroeira, com valores acima de 90% de conteúdo polínico, conforme os critérios estabelecidos por Barth (1989) e Louveaux et al. (1978). A composição polínica do mel analisado apresenta similaridade com outros méis de aroeira estudados anteriormente por Pena-Júnior et al. (2022), nos quais o conteúdo polínico dos méis monoflorais de aroeira variou entre 92,52% e 98,15%, enquanto os de floração dominante apresentaram valores de 79,36% e 83,19%. As análises polínicas são eficientes não apenas para a caracterização do tipo de mel, mas também revelam as preferências florais regionais das abelhas, permitindo estabelecer correlações com a composição florística local, constituindo assim um importante dado para verificação de autenticidade.

Já sobre os dados obtidos do LC-HRMS, as análises realizadas indicaram a presença de fitohormônios já descritos para méis, contudo sem registro para méis do norte de Minas Gerais.

Os dados de fragmentação obtidos trazem o perfil de fragmentograma de três fitohormônios, dois (ácido abscísico e vomifoliol) já relatados em mel, e um (roseosídeo) inédito para essa matriz.

O ácido abscísico (ABA) e ou isômeros, foram identificados com íon precursor de m/z 265, e a formação dos fragmentos correspondentes a duas desidratações, a primeira com m/z 247 [$M+H-H_2O$], a segunda m/z 229 [$M+H-2H_2O$] e o fragmento m/z 201, correspondente a duas desidratações e a perda de um grupo CO [$M+H-2H_2O-CO$] (Oelschlaegel *et al.*, 2012). Essa substância já tem sido relatada em estudos anteriores como marcadores químicos em diferentes tipos de méis (de Souza *et al.*, 2024), sendo também usados para autenticar qualidade de alimentos (Medina *et al.*, 2019). Recentemente, descobriu-se que o ABA é sintetizado por células de mamíferos e foi associado a doenças humanas (Li et al 2011), desde então suas vias metabólicas têm sido diligentemente estudadas. Sendo demonstrado por Jung *et al.*, (2021) que o ABA regula a dormência do PCa in vivo após injeção intratibial em um modelo animal. Sugerindo que as vias de sinalização do ABA e do PPAR γ contribuem para o estabelecimento da dormência celular do PCa no microambiente da medula óssea. Além disso, evidências crescentes sugerem que o ABA é um novo e crucial regulador de sinalização direcionado às células-tronco mesenquimais (MSC) e células-tronco hematopoiéticas (HSC) no microambiente da medula óssea (Sakthivel *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2015).

O vomifoliol foi anotado, com precursor de m/z 225 e fórmula molecular $C_{13}H_{20}O_3$, que mostrou picos em m/z 207 correspondendo à primeira desidratação [$M+H-H_2O$] e m/z 189 [$M+H-2H_2O$] correspondendo à segunda desidratação, m/z 149 à perda de [$M+H-C_3H_8O_2$] e m/z 123 à perda de [$M+H-C_4H_6O_3$] anotação feita com dados obtidos do Sirius. sua atividade biológica (Jaillais e Chory 2010). O vomifoliol é um composto estruturalmente relacionado ao ácido ABA, desempenhando as mesmas funções semelhantes ou iguais (Coke *et al.*, 1975). O vomifoliol e o ácido cis-trans-abscísico, respectivamente, poderiam ser usados no transporte de potássio nas plantas, conferindo a abertura e fechamento de estômatos (Stuart *et al.*,

1978). Esse composto foi encontrado em estudos no mel australiano Yellow Box e mel de goma azul australiana (D'Arcy *et al.*, 1997)

O roseosídeo, fórmula molecular $C_{19}H_{30}O_8$, foi anotado com o íon precursor de m/z 387, identificando o pico característico de m/z 225 resultados da perda do açúcar hexose (m/z 163) $[M+H-C_6H_{11}O_5]$, o segundo fragmento aglicona com m/z 207 $[M+H-C_6H_{12}O_6]$ pode ser visto como a perda da ligação C1 do açúcar a hexose, e m/z 189 $[M+H-C_6H_{12}O_6-H_2O]$ (Xiao *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). A substância roseosídeo, constitui em um glicosídeo do vomifoliol (Bhakuni *et al.*, 1974), o que ocorre de maneira natural biogeneticamente por clivagem oxidativa de ligações duplas conjugadas de carotenóides (Yamano *et al.*, 2005), sendo definido como sesquiterpenoide e tem forte atividade antioxidante. Esta substância tem sido isolada de várias plantas, demonstrando variedade de atividades funcionais. Como o relaxamento de anéis aórticos pré-contráídos de uma maneira dependente do endotélio (Lee *et al.*, 2002), aumenta a secreção de insulina (Frankish *et al.* 2010) inibe a glicose- β -fosfato microssomal do fígado de ratos (Bermúdez *et al.*, 2012) mostra efeitos inibitórios na produção de óxido nítrico (NO) induzida por lipopolissacarídeo (LPS) em células RAW264 (Huong *et al.*, 2017), previne o estresse oxidativo (Pinto *et al.*, 2017), tem efeito de despigmentação em melanócitos ao inibir a síntese de melanina (Lee *et al.*, 2018) e efeitos anti-hipertensivos significativos em células H9C2 estimuladas por Ang II (Hong *et al.*, 2019). Além disso, recentemente, Yajima *et al.* 2009, relataram a síntese de quatro estereoisômeros de roseosídeo demonstrando sua atividade inibitória na liberação de leucotrienos de mastócitos cultivados derivados da medula óssea de camundongos.

Os fitohormônios, também conhecidos como hormônios vegetais, desempenham papéis vitais na capacidade das plantas de se aclimatar a ambientes variados, mediando o crescimento, o desenvolvimento (Peleg e Blumwald 2011) incluindo divisão celular, ampliação e diferenciação, desenvolvimento de órgãos, dormência e germinação de sementes, senescência de folhas e órgãos e abscisão (FU., *et al.* 2011). Além disso, são metabólitos secundários naturais que desempenham papéis importantes na fisiologia humana, estudos mostram apontam propriedades gerontomoduladora (Miller e Dick 1995), atividades antienvhecimento, afeta a expressão

genética, ciclo celular, estimulação do fluxo de Ca, composto antiestresse (Voller *et al.* 2017), propriedades antitumorais onde a análise do ciclo celular revelou que auxinas (IAA) e 2,4-D induzem forte parada G1, juntamente com uma redução drástica na porcentagem de células da fase S na linhagem celular MCF-7. Este fenômeno demonstra que as auxinas podem ter um potencial antitumoral novo e inexplorado e devem ser investigadas mais profundamente. (Mukherjee., *et al.* 2022; Ester; Curkovic-perica; Kralj, 2009). A conversa cruzada entre os diferentes hormônios vegetais, proporcionam respostas ainda mais eficientes, em relação a sua atividade biológica (Jaillais e Chory 2010).

O presente estudo revela, pela primeira vez, a ocorrência do roseosídeo no mel monofloral de aroeira, ampliando significativamente o conhecimento sobre a composição química e as propriedades bioativas deste produto. A identificação deste composto não apenas evidencia a complexidade e singularidade da matriz do mel de aroeira, mas também reforça seu potencial como fonte de compostos bioativos com aplicações terapêuticas. Esta descoberta contribui para a valorização dos benefícios nutricionais e farmacológicos deste mel, destacando sua relevância tanto para a apicultura quanto para possíveis aplicações na área da saúde.

4. CONCLUSÕES:

Os resultados deste estudo revelaram a presença inédita do roseosídeo no mel monofloral de aroeira, além de confirmar a ocorrência de fitohormônios como o ácido abscísico (ABA) e o vomifoliol, os quais já foram relatados anteriormente em outros tipos de mel. A especificação detalhada desses compostos através de técnicas de análise avançadas, como cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (LC-HRMS), demonstrou a riqueza química e a singularidade deste mel, evidenciando seu potencial como fonte de compostos bioativos. A descoberta do roseosídeo, um glicosídeo do vomifoliol com reconhecidas propriedades antioxidantes, reforça a relevância deste mel não apenas para a apicultura, mas também para aplicações funcionais e terapêuticas. Esses achados ampliam o entendimento sobre a complexidade da composição do mel de aroeira e são considerados

para seu reconhecimento como um produto apícola de alta qualidade

licença, visite <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

5. DECLARAÇÕES

5.1. Limitações do Estudo

O estudo é limitado a amostra analisada e aos ausências dos padrões dos fitohormônios.

5.2. Agradecimentos

Laboratório de Produtos Naturais (LPN) Universidade Estadual de Montes Claros e ao Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Instituto René Rachou – Fiocruz Minas.

5.3. Fonte de financiamento

Os autores financiaram esta pesquisa. De acordo com as diretrizes éticas do Periódico Tchê Química, que não permitem doações de autores com manuscritos em avaliação (mesmo quando fundos de pesquisa estão disponíveis), ou em casos de restrições financeiras dos autores, os custos de publicação foram totalmente absorvidos pela revista sob nossa política de Acesso Aberto Platinum, através do apoio da Associação Científica Araucária (<https://acaria.org/>). Esta política visa garantir completa independência entre o processo editorial e quaisquer aspectos financeiros, reforçando nosso compromisso com a integridade científica e a equidade na disseminação do conhecimento.

5.4. Conflitos de Interesse

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

5.4. Open Access

Este artigo está licenciado sob uma Licença Internacional Creative Commons Atribuição 4.0 (CC BY 4.0), que permite o uso, compartilhamento, adaptação, distribuição e reprodução em qualquer meio ou formato, desde que você dê o devido crédito ao (s) autor (es) original (is) e a fonte, forneça um link para a licença Creative Commons e indique se foram feitas alterações. As imagens ou outro material de terceiros neste artigo estão incluídos na licença Creative Commons do artigo, a menos que indicado de outra forma em uma linha de crédito para o material. Se o material não estiver incluído na licença Creative Commons do artigo e seu uso pretendido não for permitido por regulamentação legal ou exceder o uso permitido, você precisará obter permissão diretamente do detentor dos direitos autorais. Para ver uma cópia desta

6. REFERÊNCIAS

1. ACÁCIO, T. M. *et al.* Análise de méis por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas. *J Chromatogr Sep Tech*, v. 14, 2023. 10.35248/2157-7064.23.14.493
2. BERMÚDEZ, J. *et al.* (2012). (6R,9S)-6''-(4''-Hydroxybenzoyl)-Roseoside, a New Megastigmane Derivative from *Ouretea polyantha* and its Effect on Hepatic Glucose-6-phosphatase. In *Natural Product Communications* (Vol. 7, Issue 8). <https://doi.org/10.1177/1934578x1200700802>.
3. BHAKUNI, D. S. *et al.* Roseoside-A C13 glycoside from *Vinca Rosea*. *Phytochemistry*, v. 13, n. 11, p. 2541–2543, 1974. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)86933-2](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)86933-2).
4. COKE, L. B.; STUART, K. L.; WHITTLE, Y. G. Further effects of vomifolol on stomatal aperture and on the germination of lettuce and the growth of cucumber seedlings. In *Planta* (Vol. 127, Issue 1, pp. 21–25). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/bf00388859>.
5. D'ARCY, B. R., RINTOUL, G. B., ROWLAND, C. Y., & BLACKMAN, A. J. (1997). Composition of Australian Honey Extractives. 1. Norisoprenoids, Monoterpenes, and Other Natural Volatiles from Blue Gum (*Eucalyptus leucoxylon*) and Yellow Box (*Eucalyptus melliodora*) Honeys. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 45, Issue 5, pp. 1834–1843). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/jf960625+>.
6. DAS, A. *et al.* (2015). Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of *Sesamum indicum* honey containing phenolic compounds and lignans. In *LWT - Food Science and Technology* (Vol. 61, Issue 1, pp. 244–250). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.044>
7. DE SOUZA, V. M. M. *et al.* (2024). In Silico Investigation of the Constituents of Aroeira

- Honey (*Astronium urundeuva*) and the Binding Affinity with Important Proteins of *M. leprae* and *M. tuberculosis*. In *Molecular Modeling Connect* (Vol. 1, Issue 1, p. 1). Scifiniti Publishing. <https://doi.org/10.69709/molmodc.2024.113103>.
8. FERRERES, F.; ANDRADE, P.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. (1996). Natural Occurrence of Abscissic Acid in Heather Honey and Floral Nectar. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 44, Issue 8, pp. 2053–2056). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/jf9507553>.
 9. FRANKISH, N. *et al.* (2010). Enhancement of Insulin Release from the β -Cell Line INS-1 by an Ethanolic Extract of *Bauhinia variegata* and Its Major Constituent Roseoside. In *Planta Medica* (Vol. 76, Issue 10, pp. 995–997). Georg Thieme Verlag KG. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1240868>.
 10. HONG, E. Y. *et al.* (2019). Inhibitory Effects of Roseoside and Icariside E4 Isolated from a Natural Product Mixture (No-ap) on the Expression of Angiotensin II Receptor 1 and Oxidative Stress in Angiotensin II-Stimulated H9C2 Cells. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 3, p. 414). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules24030414>.
 11. HORAI, H. *et al.* (2010). MassBank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences. In *Journal of Mass Spectrometry* (Vol. 45, Issue 7, pp. 703–714). Wiley. <https://doi.org/10.1002/jms.1777>.
 12. HOSSAIN, M. L., LIM, L. Y., HAMMER, K., HETTIARACHCHI, D., & LOCHER, C. (2022). A Review of Commonly Used Methodologies for Assessing the Antibacterial Activity of Honey and Honey Products. In *Antibiotics* (Vol. 11, Issue 7, p. 975). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070975>.
 13. HUONG, N. T. *et al.* (2017). Triterpene saponins and megastigmane glucosides from *Camellia bugiamapensis*. In *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (Vol. 27, Issue 3, pp. 557–561). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.12.02>.
 14. JAILLAIS, Y., & CHORY, J. (2010). Unraveling the paradoxes of plant hormone signaling integration. In *Nature Structural & Molecular Biology* (Vol. 17, Issue 6, pp. 642–645). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1038/nsmb0610-642>.
 15. Jung, Y., Cackowski, F. C., Yumoto, K., Decker, A. M., Wang, Y., Hotchkiss, M., Lee, E., Buttitta, L., & Taichman, R. S. (2021). Abscissic acid regulates dormancy of prostate cancer disseminated tumor cells in the bone marrow. In *Neoplasia* (Vol. 23, Issue 1, pp. 102–111). <https://doi.org/10.1016/j.neo.2020.11.009>.
 16. LEE, T.-H. *et al.* (2002). Inhibitory Effects of Glycosides from the Leaves of *Melaleuca quinquenervia* on Vascular Contraction of Rats. In *Planta Medica* (Vol. 68, Issue 6, pp. 492–496). Georg Thieme Verlag KG. <https://doi.org/10.1055/s-2002-32563>.
 17. LEE, Y. R. *et al.* (2018). Skin depigmenting action of silkworm (*Bombyx mori* L.) droppings in zebrafish. In *Archives of Dermatological Research* (Vol. 310, Issue 3, pp. 245–253). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s00403-018-1804-1>.
 18. Li, H.-H., Hao, R.-L., Wu, S.-S., Guo, P.-C., Chen, C.-J., Pan, L.-P., & Ni, H. (2011). Occurrence, function and potential medicinal applications of the phytohormone abscissic acid in animals and humans. In *Biochemical Pharmacology* (Vol. 82, Issue 7, pp. 701–712). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2011.06.042>.
 19. LIN, L., & TAN, R. X. (2011). Cross-Kingdom Actions of Phytohormones: A Functional Scaffold Exploration. In *Chemical Reviews* (Vol. 111, Issue 4, pp. 2734–2760). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/cr100061j>.
 20. MICHELINI, F. M. *et al.* (2004). In vitro and in vivo antiherpetic activity of three new synthetic brassinosteroid analogues. In *Steroids* (Vol. 69, Issues 11–12, pp. 713–720). Elsevier BV.

- <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2004.04.011>.
21. OELSCHLAEGEL, S. *et al.* (2012). Classification and Characterization of Manuka Honeys Based on Phenolic Compounds and Methylglyoxal. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 60, Issue 29, pp. 7229–7237). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/jf300888q>.
 22. OLIVEIRA, P. S., MÜLLER, R. C. S., DANTAS, K. DAS G. F., ALVES, C. N., VASCONCELOS, M. A. M. DE, & VENTURIERI, G. C. (2012). Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis mellifera* (Apidae, Apini) da Amazônia. In *Química Nova* (Vol. 35, Issue 9, pp. 1728–1732). FapUNIFESP. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422012000900005>.
 23. PELEG, Z., & BLUMWALD, E. (2011). Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 14, Issue 3, pp. 290–295). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.02.001>.
 24. PINTO, J. *et al.* (2017). Polyphenolic profile and antioxidant activities of Madeiran elderberry (*Sambucus lanceolata*) as affected by simulated in vitro digestion. In *Food Research International* (Vol. 100, pp. 404–410). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.044>.
 25. RATTAN, S. I. S., & SODAGAM, L. (2005). Gerontomodulatory and Youth-Preserving Effects of Zeatin on Human Skin Fibroblasts Undergoing Aging In Vitro. In *Rejuvenation Research* (Vol. 8, Issue 1, pp. 46–57). Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/rej.2005.8.46>.
 26. Sakthivel, P., Sharma, N., Klahn, P., Gereke, M., & Bruder, D. (2016). Absciscic Acid: A Phytohormone and Mammalian Cytokine as Novel Pharmacon with Potential for Future Development into Clinical Applications. In *Current Medicinal Chemistry* (Vol. 23, Issue 15, pp. 1549–1570). Bentham Science Publishers Ltd. <https://doi.org/10.2174/0929867323666160405113129>.
 27. SLAVIKOVA, B. *et al.* (2008). Brassinosteroids: Synthesis and Activity of Some Fluoro Analogues. In *Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 51, Issue 13, pp. 3979–3984). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/jm800085p>.
 28. SOARES-BEZERRA, R. J. *et al.* (2019). A new insight into purinergic pharmacology: Three fungal species as natural P2X7R antagonists. In *Phytotherapy Research* (Vol. 33, Issue 9, pp. 2319–2328). Wiley. <https://doi.org/10.1002/ptr.6412>.
 29. WANG, Q. *et al.* (2017). Comprehensive Profiling of Phytohormones in Honey by Sequential Liquid–Liquid Extraction Coupled with Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 65, Issue 3, pp. 575–585). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04234>.
 30. XIAO, Y. C. *et al.* (2018). Identification of multiple constituents in shuganjiyeu capsule and rat plasma after oral administration by ultra-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization and ion trap mass spectrometry. In *Acta Chromatographica* (Vol. 30, Issue 2, pp. 95–102). Akademiai Kiado Zrt. <https://doi.org/10.1556/1326.2017.00094>.
 31. YAJIMA, A. *et al.* (2009). A simple synthesis of four stereoisomers of roseoside and their inhibitory activity on leukotriene release from mice bone marrow-derived cultured mast cells. In *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (Vol. 17, Issue 1, pp. 189–194). <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.11.002>.
 32. YAMANO, Y., & ITO, M. (2005). Synthesis of Optically Active Vomifoliol and Roseoside Stereoisomers. In *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Vol. 53, Issue 5, pp. 541–546). Pharmaceutical Society of Japan. <https://doi.org/10.1248/cpb.53.541>.
 33. ZHANG, Y. *et al.* (2018). UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS analysis, antioxidant activity combined fingerprints for quality consistency evaluation of compound liquorice tablets. In *RSC Advances* (Vol. 8, Issue 49, pp. 27661–27673). Royal Society of Chemistry (RSC). <https://doi.org/10.1039/c8ra02431f>.

34. Zhou, N., Yao, Y., Ye, H., Zhu, W., Chen, L., & Mao, Y. (2015). Absciscic-acid-induced cellular apoptosis and differentiation in glioma via the retinoid

acid signaling pathway. In *International Journal of Cancer* (Vol. 138, Issue 8, pp. 1947–1958). Wiley.
<https://doi.org/10.1002/ijc.29935>.

Tabela 1. Anotações LC-HRMS dos fitohormônios detectados no mel de aroeira.
Fonte: o autor.

1	34,2		264,32 g/mol	265,14 g/mol	187.1109 (100.0) 247.1323 (90.5) 229.1218 (77.8) 201.1270 (71.2)
2	31,7	Ácido abscísico C ₁₅ H ₂₀ O ₄	264,32 g/mol	265,14g/mol	265.1427 (100.0) 206.0833 (61.1) 205.0756 (25.0) 247.1323 (12.2)
3	33,8		264,32 g/mol	265,14g/mol	265.1427 (100.0) 205.0756 (15.1) 247.1323 (17.3) 229.1218 (9.9)
4	33,5	Vomifoliol C ₁₃ H ₂₀ O ₃	224,30 g/mol	225,14 g/mol	207.1373 (100.0) 149.0955 (30.3)
5	31,5	Roseosídeo C ₁₉ H ₃₀ O ₈	386,4 g/mol	387,20 g/mol	387.2004 (100.0) 225.1479 (84.8) 207.1372 (71.0)

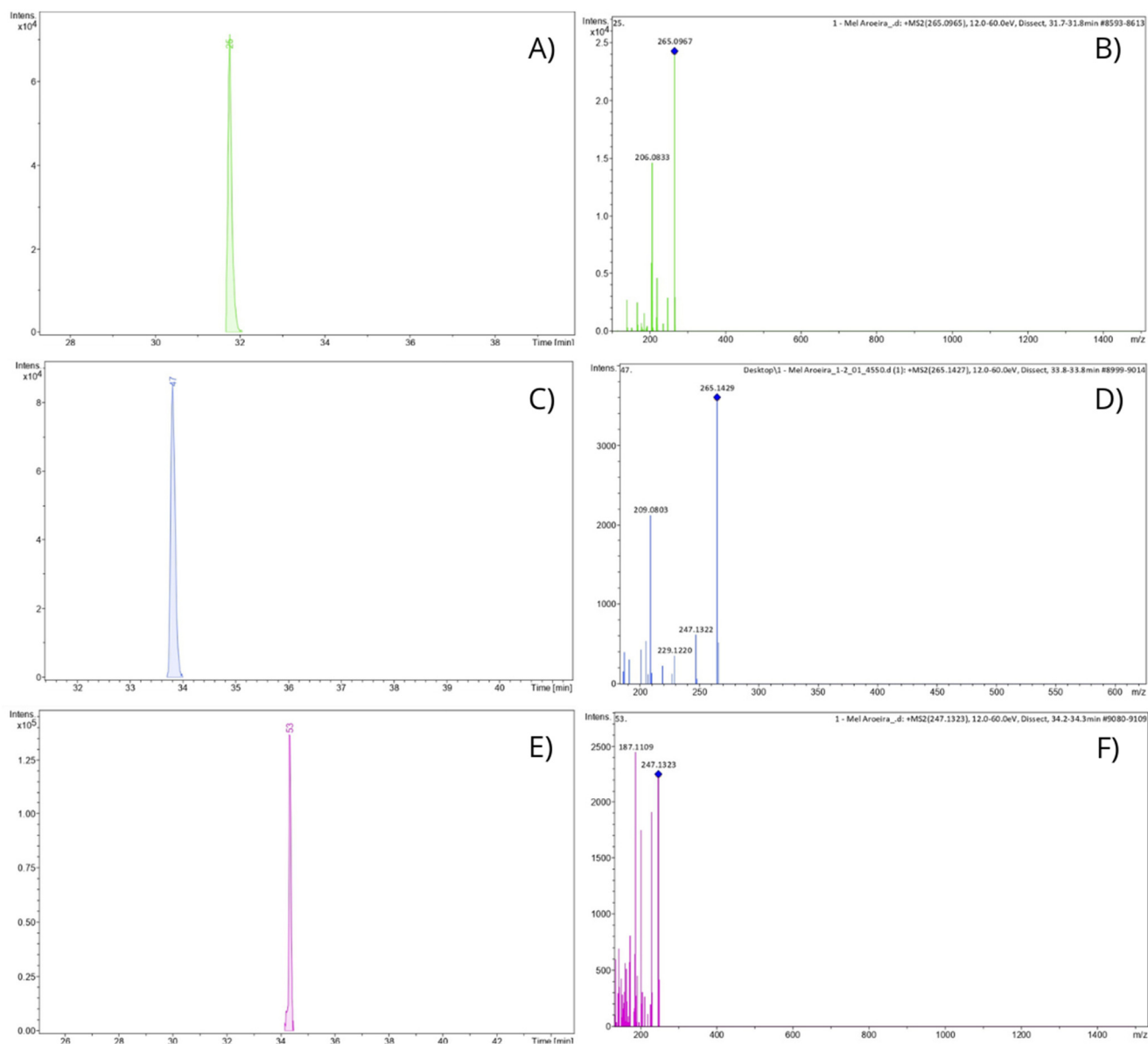


Figura 2. A) Cromatograma ABA 1. B) Fragmentograma ABA 1; C) Cromatograma ABA 2. D) Fragmentograma ABA 2; E) Cromatograma ABA 3. F) Fragmentograma ABA 3.

Fonte: o autor

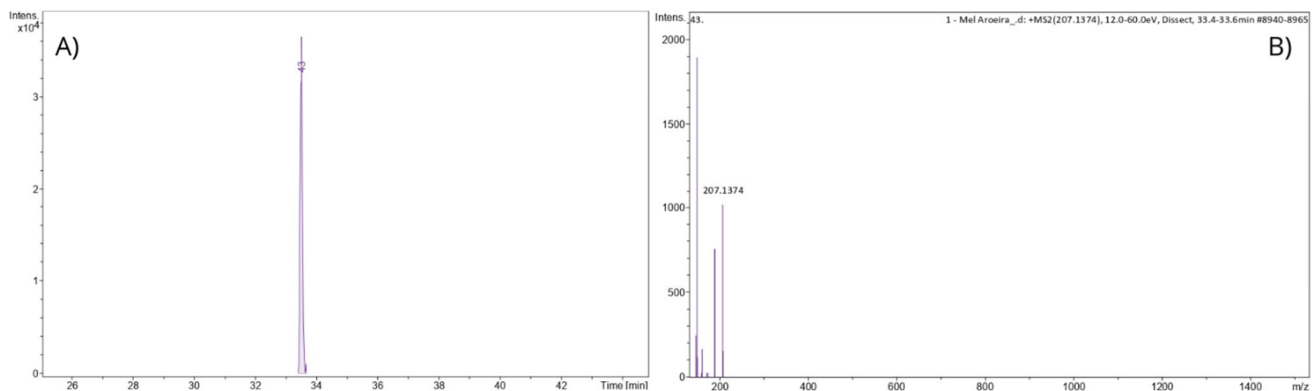


Figura 2. A) Cromatograma Vomifoliol. B) Fragmentograma Vomifoliol.

Fonte: o autor

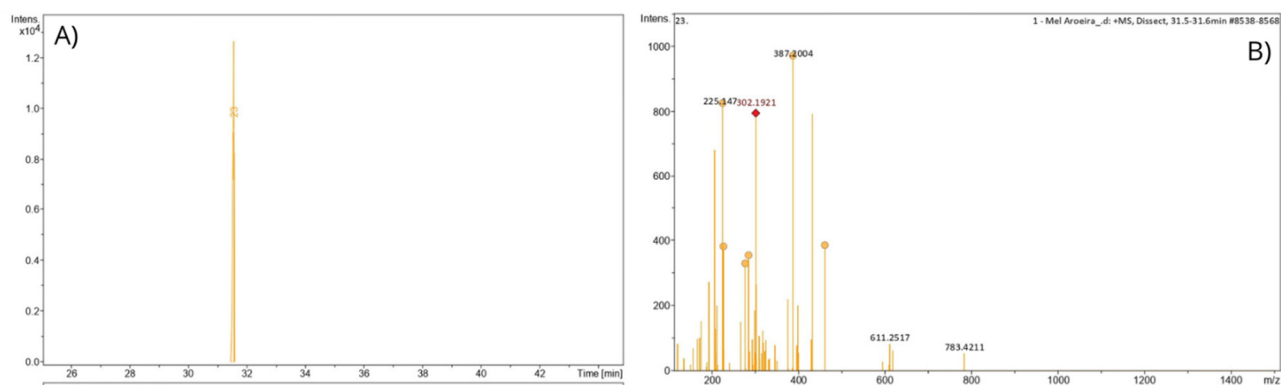


Figura 3. A) Cromatograma Roseosídeo. B) Fragmentograma Roseosídeo.
Fonte: o autor