



Congrega
Urcamp 2016

13ª JORNADA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COMPOSTOS BIOATIVOS EM MEL PRODUZIDOS NA CAMPANHA GAÚCHA

Resumo – O mel, devido a suas características peculiares, já foi utilizado inclusive como medicamento, o que pode ser atribuído à presença dos compostos bioativos, como por exemplo, os fenóis e carotenoides. Mesmo estando presentes em baixa concentração, esses compostos conferem efeito anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano ao produto, aumentando a imunidade e outras atividades fisiológicas no organismo. Importante salientar que o teor e a diversidade destes elementos é dependente da origem geográfica, composição do solo, condições regionais e mudanças climáticas da área forrageada pelas abelhas. Assim, este trabalho teve por objetivo a determinação dos teores de compostos fenólicos, flavonoides e carotenoides totais de méis da campanha gaúcha. Para tanto, foram analisadas amostras de diferentes produtores dos municípios de Aceguá e Hulha Negra/RS. Para determinação do teor de fenóis totais foi utilizado o reagente Folin-Ciocalteu e leitura à 760nm em espectrofotômetro e quantificação com curva padrão de ácido gálico. A determinação de flavonoides foi baseada na reação com o cloreto de alumínio ($AlCl_3$), a curva-padrão construída com quercitina. Para carotenoides totais foi utilizada uma solução extratora de hexano:acetona, com leitura no comprimento de onda de 450nm, a curva foi realizada com padrão de β -caroteno. As análises revelaram variações nos teores dos componentes estudados, quando comparados as diferentes regiões, sendo obtidos valores de 49,90 a 81,20 mg EAG 100 g^{-1} para compostos fenólicos totais; 5,13 a 10,13 mg EQ 100 g^{-1} para flavonoides e 0,09 a 0,20 mg β -caroteno 100 g^{-1} de mel para carotenoides. A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que ocorrem diferenças entre as regiões estudadas, tanto em função da diversidade da flora das mesmas, quanto da agricultura desenvolvida nos diferentes locais. Estudos complementares devem ser desenvolvidos a fim de caracterizar as regiões geográficas a partir dos compostos obtidos.

Palavras-chave: mel, compostos bioativos, campanha gaúcha.

Abstract – The honey, due to their peculiar characteristics, it has been used as drug inclusive, which can be attributed to the presence of bioactive compounds, such as phenolics and carotenoids. Even though present in low concentrations, these compounds provide anti-inflammatory, antioxidant and anti-microbial the product, increasing immunity and other physiological activities in the body. Important to note that the level and diversity of these elements is dependent on the geographical origin, soil composition, regional conditions and climate change area foraged by bees. Thus, this study aimed to determine the total content of phenolics, flavonoids and carotenoids in honeys of the state campaign. Therefore, samples were analyzed from different producers in the municipalities of Aceguá and Hulha Negra/ RS. For determination of total phenol content was used the Folin- Ciocalteu reagent and reading to 760 nm in spectrophotometer and quantification with standard curve of gallic acid. Determination of flavonoids was based on the reaction with aluminum chloride ($AlCl_3$), a



Congrega

Urcamp 2016

curve-standard constructed with quercetin. For determination of total carotenoid used an extraction solution of hexane: acetone, with reading at a wavelength of 450 nm, curve was performed with standard β -carotene. The analysis revealed changes in the contents of the components studied, as compared with other regions, values were obtained from 49.90 to 81.20 mg GAE 100 g⁻¹ gallic acid for total phenolic compounds; 5.13 to 10.13 g mg QE 100 g⁻¹ for flavonoids and 0.09 to 0.20 mg β -carotene 100 g⁻¹ of honey for carotenoids. From the results obtained, it can be concluded that differences occur between the regions studied, both due to the diversity of the flora of the same, as the agriculture developed in different locations. Additional studies should be conducted in order to characterize the geographic regions from the obtained compounds.

Keywords: honey, bioactive compounds, state campaign.

INTRODUÇÃO

Na produção de mel, o Brasil é destaque (35.364 toneladas produzidas em 2013), ocupando o 11º lugar no *ranking* mundial, sendo o Estado do Rio Grande do Sul (RS) o maior produtor do país, com 7.286 toneladas no ano de 2013, cerca de 20% da produção nacional (FAO, 2013; IBGE, 2015).

O mel é um produto apícola açucarado produzido por abelhas (*Apis mellifera* L.) a partir do néctar de flores ou de melada, que não contém aditivos ou conservantes (POHL; SERGIEL, 2010; ANDRADE et al., 2014). Em sua composição o mel apresenta elevado teor em hidratos de carbono (frutose, glucose, maltose, sacarose) e água, ambos perfazendo conteúdo superior a 95%. Além desses, estão presentes em menores quantidades diversos ácidos, enzimas, vitaminas, flavonoides, proteínas, compostos aminados e elementos orgânicos e inorgânicos (HERNÁNDEZ et al., 2005; POHL, 2009; ETERAF-OSKOU EI; NAJAFI, 2013; ISLAM et al., 2013). Alguns destes constituintes, apesar de estarem presentes em minoria, trazem benefícios à saúde do consumidor, como os compostos fenólicos e carotenoides (MEDA et al., 2005; ALVAREZ - SUAREZ et al., 2010).

Os compostos fenólicos são responsáveis pelo mel apresentar efeito anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano, aumentando a imunidade e outras atividades fisiológicas no organismo humano. E por este motivo vem sendo utilizado como medicamento a milhares de anos no combate a resfriados, na cicatrização de feridas, no aumento da resposta imune, na recuperação do tecido epitelial, no tratamento de úlceras e de dermatite atópica e na redução da dor (MUÑOZ-OLIVAS; CAMARA, 2001; LACHMAN et al., 2010; SOTO et al., 2015; ORYAN et al., 2016). Dentre os principais compostos fenólicos presentes em méis estão os flavonoides, que podem ser categorizados em flavonóis, flavanonas, flavonas,



isoflavonas e antocianinas (PYRZYNSKA; BIESAGA, 2009; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2012).

Os carotenoides também apresentam atividade antioxidante, além da principal função que é a atividade pro-vitâmica A, ajudando a fortalecer o sistema imunológico e a diminuir riscos de doenças cardiovasculares, cataratas e riscos de desenvolvimento de doenças degenerativas como câncer (KRINSKY, 1989; OLIVER; PALOU, 2000). Nesse contexto, o trabalho teve por objetivo a determinação de teores de compostos fenólicos, flavonoides e carotenoides totais de méis da campanha gaúcha.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização das análises em laboratório foram coletadas cinco amostras de mel em diferentes apicultores no RS. Cada local de coleta foi referenciado em função das origens geográfica e botânica (Tabela 1). Após a coleta, as amostras foram armazenadas em recipientes de polietileno sob refrigeração e ausência de luz. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, com três repetições. O experimento foi arranjado em esquema unifatorial, o fator de tratamento testado foi o local de coleta, com cinco níveis: Aceguá (A1, A2 e A3) e Hulha Negra (H1 e H2).

Tabela 1 - Informações das amostras de mel utilizadas nas análises, data da coleta, origem geográfica e botânica.

Amostra	Município	Data da Coleta	Coordenadas Geográficas	Origem Botânica
A1	Aceguá	Março/2016	31°38'37.388"S e 54°11'34.732"O	Silvestre
A2	Aceguá	Março/2016	31°37'10.045"S e 54°10'19.214"O	Silvestre
A3	Aceguá	Abril/2016	31°40'20.125"S e 54°4'0.116"O	Trevo Branco
H1	Hulha Negra	Fevereiro/2016	31°19'952"S e 53°53'821"O	Silvestre
H2	Hulha Negra	Mai/2016	31°26'35.318"S e 53°51'53.233"O	Silvestre

Na determinação de compostos fenólicos totais para cada amostra foi preparada uma solução aquosa de mel, com relação massa-volume de 5 g de amostra para 50 mL de água destilada. Desta solução já filtrada e homogeneizada, uma alíquota de 500 µL foi utilizada na reação com 2,5 mL de Folin-Ciocalteu (0,2N) e 2 mL de uma solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3 - 75 g L⁻¹) que foi adicionada após 5 minutos. Posteriormente as amostras foram deixadas na ausência de luz por duas horas. A absorbância foi medida em



espectrofotômetro a 760nm e os resultados obtidos foram relacionados com a curva padrão construída com ácido gálico e os resultados expressos em miligramas de equivalentes (EQ) de ácido gálico por 100 gramas de mel (SINGLETON et al., 1999).

Para determinação de flavonoides totais, uma solução de 5 g de mel em 50 mL em metanol 50% foi preparada, homogeneizada e filtrada. A reação foi realizada com 5 mL de tricloreto de alumínio 2% em metanol e 5 mL da solução de mel. Após homogeneização, a mistura foi deixada no escuro por 30 minutos. A absorbância foi determinada a 415 nm e a curva-padrão foi confeccionada com quercitina e os resultados expressos em miligramas de equivalentes (EQ) a quercetina por 100 gramas de mel (ARVOUET-GRAND et al., 1994).

Para carotenoides totais foi preparada uma solução com 5 g de mel em 5 mL de água destilada. Depois de homogeneizada e filtrada foi misturada com 45 mL de uma solução de hexano:acetona (6:4), homogeneizou-se novamente durante 1 minuto, ficando na ausência de luz por 30 minutos. A absorbância foi medida no comprimento de onda de 450 nm. Curva padrão foi definida com β -caroteno e os resultados expressos em miligramas de equivalentes (EQ) de β -caroteno em 100 gramas de mel (FERREIRA et al., 2009). Os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F ($p \leq 0,05$). Constatando-se significância estatística, os efeitos dos locais de coleta foram comparados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Variações nos teores de componentes bioativos foram verificadas em relação as regiões em que os méis foram obtidos (Tabela 2). A variabilidade nos parâmetros de qualidade e identidade do mel deve-se a origem geográfica, composição do solo, condições regionais e mudanças climáticas da área forrageada pelas abelhas (HERNÁNDEZ et al., 2005). Na microrregião geográfica da Campanha Meridional, onde estão localizadas as cidades de Aceguá e Hulha Negra, a economia está estruturada na pecuária bovina, ovina e equina, e pela agricultura com base no cultivo principalmente de arroz e soja, na fruticultura - com destaque na produção de uva e oliva, e no monocultivo de árvores em grande escala - eucalipto, pinus e acácia (ALVES; BEZZI, 2015; RIBEIRO, 2009). Também o mel de um ambiente que contém espécies vegetais mistas, como quatro dos méis estudados, nunca está monofloral, pois é impossível controlar o comportamento das abelhas (WINSTON, 1987), aumentando a diversidade dos compostos presentes, pela abundância da flora, que além das pastagens e plantações conta com a vegetação nativa do Bioma Pampa.



Tabela 2 - Teores de compostos bioativos em méis de Aceguá e Hulha Negra/RS.

Amostras	Fenóis Totais (mg EAG 100 g ⁻¹ de mel)	Flavonoides Totais (mg EQ 100 g ⁻¹ de mel)	Carotenoides Totais (mg β-caroteno 100 g ⁻¹ de mel)
A1	80,228 ± 3,576a ^{1/}	10,135 ± 0,161a	0,196 ± 0,023a
A2	74,192 ± 0,814b	5,609 ± 0,172c	0,129 ± 0,003b
A3	63,863 ± 2,681c	5,126 ± 0,021d	0,115 ± 0,001b
H1	81,201 ± 0,350a	7,599 ± 0,170b	0,093 ± 0,005b
H2	49,897 ± 0,889d	7,897 ± 0,267b	0,114 ± 0,001b

^{1/} Médias (± desvio padrão) acompanhadas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Os valores de fenóis totais variaram de 49,90 a 81,20 mg EAG 100 g⁻¹ de mel, sendo as amostras A1 de Aceguá e H1 de Hulha Negra as que continham maior teor. Esses resultados foram superiores aos encontrados para méis florais da República Tcheca, os quais variaram de 8,36 a 14,69 mg EAG 100 g⁻¹ (LACHMAN et al., 2010); para méis portugueses, com valores de 22,62 a 72,78 mg EAG 100 g⁻¹ (FERREIRA et al., 2009); e, para méis cubanos, com valores de 21,39 a 59,58 mg EAG 100 g⁻¹ (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2010). Teores intermediários ao observado nesse trabalho foram verificados para mel multifloral, com valores que variaram de 30 a 110 mg EAG 100 g⁻¹ (WILCZYŃSKA, 2014), e, em méis da Malásia, em que foi relatado média de 59,05 mg EAG 100 g⁻¹ (KEK et al., 2014). O teor de flavonoides totais nas amostras analisadas apresentou-se entre 5,13 a 10,13 mg EQ 100 g⁻¹ de mel, e a amostra A1 com a maior quantidade. Estes valores encontram-se em acordo com os encontrados para méis de diversos tipos (multifloral, monofloral e melada) de Burkina Faso, que ficaram entre 0,2 e 8,4 mg EQ 100 g⁻¹ (MEDA, 2005). Valores inferiores foram encontrados por Martos et al. (2000), de 2,0 a 2,5 mg EQ 100g⁻¹, que analisaram méis de eucalipto da Austrália.

Das amostras estudadas, a A1 também foi a que apresentou maior teor de carotenoides, que variaram de 0,09 a 0,20 mg β-caroteno 100 g⁻¹ de mel. Valores superiores aos deste estudo para carotenoides totais foram relatados em mel catarinense, em que os teores ficaram entre 0,63 e 1,17 mg β-caroteno 100 g⁻¹ (RIZELIO, 2011), e de mel português, entre 0,86 e 0,95 mg β-caroteno 100 g⁻¹ (FERREIRA et al., 2009). Já em relação aos méis cubanos, cujos valores ficaram entre 0,12 e 0,56 mg β-caroteno 100 g⁻¹ (ALVAREZ-SUAREZ



et al., 2010), amostras A1 e A2 pertencentes a Aceguá mostraram-se semelhantes aos mesmos.

CONCLUSÃO

As regiões estudadas apresentam teores de fenólicos, flavonoides e carotenoides totais distintos, pela diversidade da flora das diferentes regiões e agricultura desenvolvida. Este fato torna necessário o desenvolvimento de estudos complementares para caracterizar as regiões geográficas a partir dos compostos obtidos.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; GIAMPIERI, F.; GONZALEZ-PARAMAS, A. M; DAMIANI, E., ASTOLFI, P.; MARTINEZ-SANCHEZ, G; BOMPADRE, S.; QUILES, J.L.; SANTOS-BUELGA, C.; BATTINO, M. Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 1508-1516, 2012.

ALVAREZ-SUAREZ, J.M.; TULIPANI, S.; DÍAZ, D.; ESTEVEZ, Y.; ROMANDINI, S.; GIAMPIERI, F.; DAMIANI, E.; ASTOLFI, P.; BOMPADRE, S.; BATTINO, M. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 2490-2499, 2010.

ALVES, A. L. P; BEZZI, M. L. Perspectivas de desenvolvimento regional da microrregião geográfica da campanha meridional mediante a (re) organização do espaço rural. In: VII Seminário Internacional sobre desenvolvimento Regional, Santa Cruz do Sul: UNISC, 2015.

ANDRADE, C. K.; ANJOS, V. E.; FELSNER, M. L.; TORRES, Y. R.; QUINÁIA, S. P. Direct determination of Cd, Pb, and Cr in honey by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 146, p. 166-173, 2014.

ARVOUET-GRAND, A.; VENNAT, B.; POURRAT, A.; LEGRET, P. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. **Journal Pharmacie Belgique**, V. 49, n. 6, p. 462-468, 1994.

ETERAF-OSKOU EI, T; NAJAFI, M. Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: a review. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, n. 16, v. 6, p. 731-742.

FERREIRA, I. C. F. R.; AIRES, E.; BARREIRA, J. C. M.; ESTEVINHO, L. M. Antioxidant activity of portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. **Food Chemistry**, v. 114, p. 1438-1443, 2009.



HERNÁNDEZ; O. M.; FRAGA, J. M. G.; JIMÉNEZ, A. I.; JIMÉNEZ, F.; ARIAS, J. J. Characterization of honey from the canary islands: determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. **Food Chemistry**, v. 93, p. 449-458, 2005.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal, 2015.

ISLAM, N.; KHALIL, I.; ISLAM, A.; GAN, S. H. Toxic compounds in honey. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, n. 7, p. 733-742, 2013.

KEKA, S. P.; CHINA, N. L., YUSOFA, Y. A.; TANB, S. W.; CHUAC, L. S. Total Phenolic Contents and Colour Intensity of Malaysian honeys from the *Apis* spp. and *Trigona* spp. Bees. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 150-155, 2014.

KRINSKY, N. I. Carotenoids as chemopreventive agents. **Preventive Medicine**, v. 18, n. 5, p. 592-602, 1989.

LACHMAN, J.; ORSÁK, M.; HEJTMÁNKOVÁ, A.; KOVÁROVÁ, E. Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. **LWT- Food Science and Technology**, v. 43, n. 1, p. 52-58, 2010.

MARTOS, I.; FERRERES, F.; TOMAS-BARBERAN, F.A. Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, p. 1498-1502, 2000.

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

MUÑOZ-OLIVAS, R.; CAMARA, C. **Speciation related to human health**. In: Ebdon, L.; Pitts, L.; Cornelis, R.; Crews, H.; Donard, O. F. X., Quevauviller, P. (Eds.), Trace Element Speciation for Environment, Food and Health. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, p. 331-353, 2001.

OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal of Chromatography**, v. 881, n. 1, p. 543-555, 2000.

POHL, P. Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, p. 117-128, 2009.

POHL, P.; SERGIEL, I. Direct determination of the total concentrations of copper, iron and manganese and their fractionation forms in freshly ripened honeys by means of flame atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, v. 168, p. 9-15, 2010.



Congrega
Urcamp 2016

PYRZYNSKA, K.; BIESAGA, M. Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, p. 893-902, 2009.

RIBEIRO, C. M. **Estudo do modo de vida dos pecuaristas familiares da região da Campanha do Rio Grande do Sul**. 2009. 300f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Rural) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

RIZELIO, V. M. **Caracterização química do mel catarinense: composição, atividade antioxidante e o uso da eletroforese capilar como alternativa na avaliação da qualidade**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

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

WILCZYŃSKA, A. Effect of filtration on colour, antioxidant activity and total phenolics of honey. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n.2, p. 767-774, 2014.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: a narrative review and meta-analysis. **Journal of Tissue Viability**, v. 25, n. 2, p. 98-118, 2016.

SOTO, M. L.; FALQUÉ, E.; DOMÍNGUEZ, H. Relevance of Natural Phenolics from Grape and Derivative Products in the Formulation of Cosmetics: Review. **Cosmetics**, v. 2, p. 259-276, 2015.