AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE AMOSTRAS DE MEL PROVENIENTES DE DIFERENTES REGIÕES

Luana Castilho (BIC/Fundação Araucária/UEPG), Ana Carolina Mendes Hacke, Aline A. Boligon, José Carlos Rebuglio Vellosa, Romaiana Picada Pereira (Orientadora), e-mail: romaiana@yahoo.com.br.
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química.

Ciências Biológicas, Bioquímica.
Palavras-chave: compostos fenólicos, flavonoides, artemia salina, compostos naturais.

Resumo

O mel é um alimento altamente consumido e poderá ser incluído na dieta para a prevenção de patologias. O objetivo deste trabalho foi analisar amostras de mel provenientes de diferentes regiões e compará-las quanto a sua composição química e possível toxicidade.Compostos fenólicos e flavonoides foram identificados e quantificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Realizou-se a investigação da toxicidade frente à Artemia salina e verificou-se que as amostras não apresentaram efeito tóxico. Pode-se concluir que o mel é um composto natural bastante rico em compostos fenólicos e apresenta um teor significativo de flavonoides. A amostra de mel 5 foi a que apresentou melhor composição química e o mel 1 apresentou maior teor de compostos fenólicos, seguido do mel 6, as outras amostras não diferem estatisticamente. Os resultados demonstram a influência da região na concentração de compostos bioativos podendo assim interferir também nos benefícios provenientes do consumo deste alimento.

Introdução

O mel é um produto natural produzido por abelhas através do néctar das flores, sua composição química é originada da diversidade florística da região em que é coletado. Os efeitos benéficos de diversos produtos naturais estão associados a presença de flavonoides, que agem de forma a poupar o consumo de vitamina C, podem inibir enzimas e evitam a formação de radicais livres (KOO & SUHAILA, 2001). Apesar dos benefícios associados ao mel, ele tem sido identificado como uma fonte de intoxicação alimentar em casos de botulismo infantil, por isto é importante avaliar também a sua toxicidade (RAGAZANI,2008).Considerando o elevado consumo do mel, a influência da região em que é produzido sobre a sua composição química e as evidências de potencial farmacológico deste alimento, o objetivo do presente estudo foi avaliar a composição química e possível toxicidade de amostras de mel provenientes de diferentes regiões.

Materiais e Métodos

Nesta pesquisa foram utilizadas oito amostras de mel com características diferentes para a determinação de sua composição química e sua toxicidade. Na Tabela 1, está a relação das amostras de mel utilizadas, assim como sua origem e procedência geográfica.

Tabela 1 – Lista de amostras de mel, origem floral e procedência geográfica.

Amostras	Origem botânica	Procedência
M1	Polifloral	General Carneiro - PR
M2	Angico	Pitanga – PR
M3	Eucalipto	Divinolância - MG
M4	Silvestre - polifloral	Bituruna – PR
M5	Melato - Baccharis	Caçador - SC
M6	Silvestre - polifloral	Pitanga -PR
M7	Silvestre - polifloral	Bituruna, Campo Largo e União da Vitória - PR
M8	Silvestre - polifloral	Ganhães - MG

Obtenção dos extratos fenólicos de mel

Pesou-se 80 gramas das amostras dissolveu-se em 400 mL de água destilada. Ajustou-se o pH com HCl concentrado para 2 e fez-se uma filtração para remoção de partículas sólidas. Em seguida, o filtrado foi transferido para um béquer contendo resina Amberlite XAD-2 (Fluka Chemie; poro 9 nm; partícula: 0,3 – 1,2 nm) e agitado durante 15 minutos. Após a agitação transferiu-se para uma coluna (25 x 2 cm). Posteriormente, a fração fenólica foi eluída com 300 mL de metanol e concentrada a pressão reduzida a temperatura de 60°C. A amostra foi evaporada em estufa a 60°C até total eliminação do solvente, foi solubilizada em etanol e armazenada sob refrigeração.

Investigação da composição química

Avaliação do conteúdo de compostos fenólicos totais das amostras de mel

Determinou-se o teor de compostos fenólicos através do reagente de Folin-Ciocalteau, de acordo com Singleton et al (1999). Preparou-se uma curva de calibração de ácido gálico e as amostras de mel foram diluídas em etanol. As análises foram realizadas em triplicata e o teor de compostos fenólicos foi expresso em mg de ácido gálico (A.G) g-1 de extrato.

Avaliação do conteúdo de flavonoides totais das amostras de mel.

O teor de flavonoides totais foi realizado a partir da complexação com o alumínio, de acordo com Woisky e Salatino (1998). Preparou-se uma curva de calibração com quercetina e diluiu-se as amostras em etanol. A leitura da absorbância foi realizada no espectrofotômetro de placas a 420 nm. O teor de flavonoides totais foi calculado a partir da curva padrão de quercetina e expresso como mg quercetina (QER) g^{-1} de extrato. As análises foram realizadas em triplicata.

Identificação e quantificação dos compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A CLAE foi realizada usando uma coluna analítica Phenomenex C18 (4.6 mm ×250 mm, tamanho de partícula de 5 µm). Os gradientes foram gerados usando ácido fórmico a 0,05% em água (A) e metanol (B), começando com 95% de A; diminuindo para 85% de A em 10 min, para 70% de A em 5 min, para 60% de A em 5 min, para 55% de A em 10 min, para 40% de A em 20 min e para 20% de A em 2

min. O fluxo foi de 0,6 mL min^{-1} e o volume injetado foi de 50 µL. As amostras de mel foram diluídas em metanol a 10 mg mL^{-1} e foram filtradas através de filtro de membrana de 0,45 µm antes da utilização. As soluções padrões foram preparadas na fase móvel num intervalo de concentração de 0,050 a 0,300 mg mL^{-1}. As quantificações foram realizadas pela integração dos picos utilizando o método padrão externo, a 257 nm para o ácido gálico; 326 nm para ácidos clorogênicos, cafeicos, p-cumárico e rosmarínicos; e 366 nm para quercetina, apigenina e kaempferol. Os picos foram confirmados comparando o tempo de retenção com os padrões de referência e os espectros DAD (200 a 500 nm).

Teste de toxicidade em Artemia salina

O teste de toxicidade foi realizado de acordo com Meyer et al. (1982). Preparou-se uma solução salina de água destilada e sal marinho na concentração de 19 g L^{-1}. Colocou-se os cistos de *Artemia salina* para eclodir na solução salina, por 48 horas a temperatura ambiente em um aquário para eclosão. Após a eclosão, foram transferidos em torno de dez larvas de *A. salina* com auxílio *de* uma micropipeta para placas de ELISA de 24 cavidades contendo a solução salina e as amostras de mel a serem testadas em diferentes concentrações (10-500 µg mL^{-1}). Utilizou-se $K_2Cr_2O_7$ como controle.

Análise estatística

Os resultados das análises foram expressos como a média ± desvio padrão. Os dados foram analisados estatisticamente pela comparação das médias dos grupos através do teste *Student-Newman-Keuls*, e $p < 0,05$ foi considerado significativo para todos os casos.

Resultados e Discussão

A Tabela 2 apresenta o teor de compostos fenólicos e flavonoides totais determinados nas diferentes amostras de mel. Pode-se observar que o mel 1 exibiu um teor de compostos fenólicos maior que os demais, seguido do mel 6 ($p < 0,05$). No entanto, o mel 5 apresentou um maior teor de flavonoides em relação aos demais ($p < 0,05$).

Tabela 2 – Teor de compostos fenólicos totais e flavonoides para as diferentes amostras de mel.

Amostras	Teor de compostos fenólicos (mg A.G/ g mel)*	Teor de compostos flavonoides (mg QER/ g mel)*
M1	22,48 ± 1,05 a	2,30 ± 0,38 a
M2	-	-
M3	10,28 ± 0,57 c	2,05 ± 0,25 a
M4	12,54 ± 1,07 c	2,40 ± 0,25 a
M5	12,94 ± 0,84 c	4,87 ± 0,14 b
M6	16,39 ± 1,84 b	3,28 ± 1,53 a
M7	9,51 ± 0,15 c	1,77 ± 0,79 a
M8	9,95 ± 0,93 c	2,20 ± 0,87 a

*Valores apresentados como a média ± desvio padrão (n=3). Médias seguidas por letras diferentes (a-e) diferem estatisticamente na mesma coluna (Newman-Keuls a p < 0,05). (A.G = ácido gálico; QER = quercetina).

As diferentes amostras de mel foram submetidas às análises de CLAE para a identificação e quantificação dos principais compostos fenólicos presentes. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 2 e os picos presentes nos cromatogramas, pode ser verificado que todas amostras de mel apresentam compostos fenólicos. Todas as amostras apresentaram ácido gálico, ácido rosmarínico, ácido p-cumárico e apigenina. O mel 5 apresentou a maior quantidade de flavonoides. Com base nos resultados obtidos, podemos considerar o mel 5 como a amostra mais promissora para possíveis efeitos biológicos.

Conclusões

As diferentes origens mostraram influência no teor de compostos fenólicos e flavonoides das amostras. O mel 1, mel polifloral, proveniente de General Carneiro-PR, mostrou maior quantidade de compostos fenólicos, seguido do mel 3, mel silvestre polifloral, de Pitanga-PR. O mel 5, mel de Baccharis, de Caçador-SC apresentou maior teor de flavonoides. Por meio do teste de toxicidade com Artemia salina, nenhuma das amostras apresentou efeito tóxico. Desta forma, mais estudos serão desenvolvidos para elucidar com mais clareza a composição química e efeitos biológicos das amostras mais promissoras.

Agradecimentos

Agradeço a UEPG, a Fundação Araucária pela bolsa concedida, a Profa. Dra. Romaiana Picada Pereira, a minha coorientadora Ana Carolina Mendes Hacke e minha colega de curso Julie Wisniewski e ao Prof Dr José Carlos Rebuglio Vellosa.

Referências

GUIMARÃES, Luis Fernando Lopes; COLLINS, Carol H. Cromatografia líquida de alta eficiência. In: **Introdução a métodos cromatográficos**. 7ª ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1997. p.183-238.

KOO, H.M.; SUHAILA, M. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. **J. Agric. Food Chemistry**. Chicago: v.49, n. 6, p. 3106-3112, 2001.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., Mcl. AUGHLIN, J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

RAGAZANI, A.V.F.; SCHOKEN-ITURRIN R.P.; GARCIA, G.R; DELFINO, T. P. C.; POIATTI, M.L; BERCHIELLI, S. P. Esporos de Clostridium botulinum em mel comercializado no Estado de São Paulo e em outros Estados brasileiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.396-399, mar-abr, 2008.

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

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **J Apic Res**, Vol. 37, 99-105, 1998.