

Área: Ciência de Alimentos

IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES BOTÂNICAS NO MEL ATRAVÉS DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Luana Luviza Bombardelli*, Thanise Teston Paganini, Maria Tereza Friedrich

Laboratório de Cromatografia, Curso de Engenharia Química, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS

**E-mail: luluvizabombardelli@hotmail.com*

RESUMO – A sociedade contemporânea tem se preocupado com a qualidade de vida e bem-estar. Somado a isso, existe o interesse do público consumidor em alimentos que produzam efeitos benéficos ao organismo e sejam promotores de saúde. O mel é um alimento que possui diversas propriedades importantes tendo na sua composição antioxidantes que retardam e previnem o processo oxidativo que ocorre naturalmente nas células. Dentre os antioxidantes existem a classe dos flavonoides que são grupos fenólicos de origem natural, sendo que a síntese não ocorre na espécie humana. Tais compostos podem ser observados em espécies botânicas e também no mel, pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-UV). A proposta deste trabalho foi realizar a determinação de flavonoides em mel e nas espécies botânicas canola, eucalipto e citros. Utilizou-se a extração hidroalcoólica com etanol combinada com a técnica de extração em fase sólida (SPE), e posterior identificação em HPLC-UV, com fase móvel metanol e coluna C18. Avaliou-se a presença dos flavonoides: quercetina, hesperidina, miricetina, luteolina, crisina e canferol. Verificou-se que há predominância dos flavonoides hesperidina e miricetina, ambos são encontrados nas três espécies botânicas estudadas, além destes, foi detectado o canferol nas amostras de méis.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. SPE. HPLC-UV.

1 INTRODUÇÃO

O mel é um alimento de elevado valor energético consumido mundialmente, sendo de grande importância para a saúde quando puro por constituir várias propriedades, tais como: antimicrobiana, curativa, calmante, regenerativa de tecidos, estimulante, antibacteriana, entre outros. (SILVA et al., 2006). O mel brasileiro é exportado na forma de misturas, deixando de ser apreciado e valorizado por seus tipos diferenciados de origens florais, que garantem méis de qualidade superior com boa aceitação no mercado externo.

O produto apícola mais fácil de ser explorado é o mel, sendo o mais conhecido e com maior possibilidade de comercialização. A coloração, o sabor, o aroma e a consistência do mel dependem da região, clima e origem floral, tendo em vista que a manipulação do mel pelo apicultor pode interferir nas características quando mal administrada (EMBRAPA, 2007). O mel apresenta atividade antioxidante por meio dos compostos fenólicos,

como os ácidos fenólicos e os flavonoides. Esta atividade varia com a composição do perfil fenólico obtido de diferentes fontes florais e condições climáticas (CIULU et al., 2016).

Analisou-se a presença de citros, canola e eucalipto no mel, devido a sua forte presença na região Sul, por meio de extração das espécies botânicas e do mel. Na espécie botânica citros é encontrado a hesperidina como flavonoide predominante. As frutas cítricas possuem vitaminas C, ácido fólico e demais compostos bioativos como os carotenoides e os flavonoides, as cascas e sementes destes frutos são ricas em compostos fenólicos (TRIPOLI et al, 2006).

A canola é uma cultura de inverno que possui flores amarelas com perfume característico e abundância de recursos alimentares sendo muito atrativa as abelhas (WITTER et al, 2014). Esta espécie botânica possui mais de dezessete flavonoides, o qual Cartea (2011) detectou a predominância de canferol. Um dos melhores e mais abundantes fornecedores de alimento para as abelhas é o eucalipto, sendo característico pela produção de um mel com diferentes características de acordo com aroma e sabor dependendo do néctar das flores do eucalipto (MARCHINI et al, 2003). A miricetina, tricetina, quercetina, luteolina e canferol geralmente são os flavonoides presentes no mel de eucalipto (BARROS, 2011).

Objetivou-se identificar a origem floral do mel através da determinação dos flavonoides: quercetina, hesperidina, miricetina, luteolina, crisina e canferol nos extratos das espécies botânicas e no mel utilizando extração em fase sólida e determinação analítica por cromatografia líquida de alta eficiência.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas no laboratório de Cromatografia da Universidade de Passo Fundo, os méis foram cedidos por apicultores da região de Passo Fundo e as espécies botânicas foram selecionadas segundo a floração regional, de acordo com cada estação do ano. Os padrões de flavonoides foram diluídos a 10% para serem injetados no cromatógrafo, sendo estes: quercetina, canferol, crisina, miricetina, hesperidina e luteolina.

Avaliou-se cinco amostras de méis sendo identificadas como: mel 1, mel 2, mel 3, mel 4 e mel 5, inicialmente foi medida a massa de 10 g de cada amostra de mel e solubilizado em 10 mL de água de Milli-Q aquecida à 40 °C. Para as espécies botânicas citros, canola e eucalipto realizou-se a redução do tamanho das folhas, brotos e flores. A metodologia de extração foi adaptada de Chabariberi e colaboradores (2009) no qual utilizou-se 2 g de amostra sendo submetida a uma extração hidroalcóolica com etanol:água (60:40) durante 30 minutos à 40°C sob refluxo, após o extrato foi resfriado à temperatura ambiente e seguiu-se para o procedimento analítico de extração em fase sólida.

As amostras de méis e espécies botânicas foram submetidas a extração em fase sólida (SPE) com fase estacionária ciano, que é uma das técnicas mais empregadas para extração e/ou pré-concentração de analitos em matrizes complexas, permitindo a detecção por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-UV) (CALDAS et al., 2011).

As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna cromatográfica C18, volume de injeção da amostra na coluna de 10 µL, fase móvel A: água 0,3% ácido fórmico e fase móvel B: metanol 0,3% ácido fórmico, a vazão da fase móvel foi de 0,8 mLmin⁻¹ e o comprimento de onda de 360 nm. A identificação dos compostos nas amostras

de méis e nas espécies botânicas foi através da comparação dos tempos de retenção dos analitos das soluções analíticas com os dos extratos das espécies botânicas e dos méis.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos apontam que tanto o mel quanto as espécies botânicas citros, canola e eucalipto possuem uma complexa matriz de vários componentes dentre eles, os flavonoides (PEREIRA, 2010; LIRA et al., 2013 e TRUCHADO et al. 2009). Os métodos de extração foram realizados com o intuito de obter-se um extrato uniformemente enriquecido em todas as substâncias de interesse, sendo possível identificar os flavonoides nas espécies botânicas conforme o quadro 1, obtendo a predominância de hesperidina e miricetina.

Quadro 1 – Identificação dos compostos fenólicos presentes nas amostras

AMOSTRAS	IDENTIFICADOS	IDENTIFICADOS NA LITERATURA	REFERÊNCIAS
Canola	Hesperidina, Miricetina	Canferol, Quercetina, Hesperidina, Miricetina.	María Elena Cartea et al. (2010); Udaya N. Wanasundar et al. (1994).
Citros	Hesperidina	Hesperidina	Pilar Truchado et al. (2009)
Eucalipto	Miricetina	Miricetina, Tricetina, Quercetina, Luteolina e Canferol	Lais B. Barros (2011); Pilar Truchado et al. (2009);

Fonte: Autoria própria, 2018.

Na análise dos méis identificou-se os flavonoides hesperidina, miricetina e canferol, sendo estes pertencentes ao mel de canola e eucalipto, verificou-se para aprimorar os resultados a área de coleta do mel.

Identificou-se na espécie botânica canola a hesperidina e a miricetina como compostos principais, porém, segundo Cartea e colaboradores (2011) na espécie botânica canola o composto predominante é o canferol, um dos fatores de possível influência é a diferente região de estudo.

O flavonoide hesperidina foi identificado na espécie botânica citros o qual confirmou-se com a literatura, onde Truchado et al. (2009) afirma que o composto predominantante é a hesperidina. Lira et al. (2013) observou nos méis produzidos no estado do Rio de Janeiro há presença de flavonoides como hesperidina, naringenina e canferol.

No eucalipto foi encontrando miricetina como único flavonoide predominante, Barros (2011) afirma que há presença dos compostos miricetina, tricetina, quercetina, luteolina e canferol. Os cromatogramas obtidos mostraram que a miricetina representa 90% dos compostos fenólicos encontrados nos méis analisados.

Na análise dos méis, segundo o quadro 2, verificou-se que estes pertencem as espécies botânicas canola e eucalipto, não obtendo mel de origem floral citros o que pode ter influenciado é a época de coleta dos méis.

Quadro 2 – Compostos identificados nas amostras de méis analisadas

AMOSTRAS	COMPOSTOS IDENTIFICADOS	PERTENCENTE Á:
Mel 1	Heperidina, Miricetina	Mel de canola
Mel 2	Hesperidina e Canferol	Mel de canola e eucalipto
Mel 3	Heperidina, Miricetina e Canferol	Mel de canola
Mel 4	Miricetina	Mel de eucalipto
Mel 5	Miricetina	Mel de eucalipto

Fonte: Autoria própria, 2018.

4 CONCLUSÃO

De acordo com a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência foi possível aplicar um procedimento capaz de determinar a presença de flavonoides e por comparação dos tempos de retenção de cada pico cromatográfico foi possível avaliar a presença de flavonoides nas amostras de méis. Os resultados obtidos indicam a presença de 3 compostos fenólicos no mel dentre os 6 estudados, hesperidina, miricetina e canferol.

Os resultados foram satisfatórios, mostrando que há possibilidade de identificação das espécies botânicas presente nos méis de forma a contribuir com os apicultores possibilitando que estes produzam um mel de qualidade diferenciada e para o consumidor, usufruir de um produto de excelência nutricional.

5 REFERÊNCIAS

- BARROS, Laís B. **Perfil sensorial e de qualidade do mel de abelha (*Apis mellifera*) produzido no estado do Rio de Janeiro**. Tese (Pós-Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Federal Fluminense, 2011.
- CALDAS, Sergiane S.; GONÇALVES, Fabio F.; PRIMEL, Ednei G.; PRESTES, Osmar D.; MARTINS, Manoel L.; ZANELLA Renato. Principais técnicas de preparo de amostra para determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**. Vol.34, No.9, São Paulo, 2011.
- CARTEA, María E.; FRANCISCO Marta; SOENGAS Pilar; VELASCO Pablo. Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. **Molecules**, Vol. 1, No. 16, p.251-280, 2011.
- CIULU, Marco; SPANO Nadia; PILO Maria I.; SANNA Gavino; Recent Advances in the Analysis of Phenolic Compounds in Unifloral Honeys. **Molecules** 2016.
- CHABARIBERI, Regina A.O.; POZZI, Alessandra C.S.; ZERAIK, Maria Luiza; YARIWAKE, Janete H. Determinação espectrométrica dos flavonoides das folhas de Maytenus (Celastraceae) e de Passiflora (Passifloraceae) e comparação com método CLAE-UV. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Vol. 19, No. 4, p.860-864, 2009.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. **ABC da Agricultura Familiar**. 1 ed. Embrapa Meio-Norte, 2007.

LIRA, A. F. CASTRO, R. N., RUMJANEK, V. M. Determinação do perfil químico de méis de laranja e eucalipto através de cromatografia líquida alta eficiência. **Anais da 36ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Aguas de Lindóia, 2013.

MARCHINI, Luís C.; MORETI, Augusta C.C.C.; NETO, Sinval S. Características físico-químicas de amostras de mel e desenvolvimento de enxames de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera, Apidae), em cinco diferentes espécies de Eucaliptos. **Sistema Eletrônico de Revistas-SER**, Vol. 21, No.1, 2003.

PEREIRA, Milena A. **Perfil cromatográfico das substâncias fenólicas presentes em extratos de mel de assa peixe e avaliação de seu poder antioxidante**. Monografia (Licenciado em Química), Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro 2010.

SILVA Robson A.; MAIA Geraldo A.; SOUZA Paulo M.; COSTA José C. Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha. **Alimentos e Nutrição Araraquará**, Vol.17, No.1, p.113-120, 2006.

TRIPOLI, Elisa., GUARDIA Maurizio L.; GIAMMANCO Santo; MAJO Danila D.; GIAMMANCO Marco. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. **Food Chemistry**, Vol.104, No2, p.466-479, 2007.

TRUCHADO, Pilar.; FERRERES, Frederico.; TOMAS-BARBERAN, Francisco A. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry reveals the widespread occurrence of flavonoid glycosides in honey, and their potential as floral origin markers. **Journal of Chromatography A**, 1216, p. 7241–7248, 2009.

WANASUNDARA, Udaya N.; SHAHIDI, Fereidoon. Stabilization of canola oil with flavonoids. **Food Chemistry**, Vol. 50, p. 393-396, 1994.

WITTER, Sidia; SILVA Patricia N.; BLOCHTEIN Betina. **As abelhas na polinização da canola**. Porto Alegre: Editora EDIPUCRS, 2014.