

FÁBIO PEREIRA DA SILVA¹, STEPHANIE YONÁ BATISTA LIMA¹, GIANI MARIA CAVALCANTE^{1*}.

¹ Faculdade Uninassau (UNINASSAU), Caruaru – PE. *E-mail: gianimc@icloud.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar atividade antioxidante de méis produzidos na região do agreste e comercializados em uma feira do interior pernambucano. A obtenção do extrato de mel foi feita através da extração em fase sólida usando cartuchos de SPE SILICA e após a percolação das amostras, a solução metanólica foi submetida a rota evaporação sendo obtido o extrato metanólico do mel (EMM). Para avaliar o teor de compostos fenólicos do EMM foi aplicado o método Folin-Ciocalteu e para avaliar a atividade antioxidante foram aplicados os métodos de captura dos radicais livres DPPH e ABTS. As amostras analisadas exibiram quantidades significativas de fenólicos totais, uma captura de DPPH igual a 1,6 g. eg. ácido gálico/mL e de ABTS igual a $3,45 \pm 0,5 \mu\text{g/mL}$, sendo a atividade antioxidante significativa. Os resultados obtidos apresentam a existência de correlação entre a quantidade de fenólicos totais e a atividade antioxidante. O mel produzido na região do agreste pernambucano e comercializado em uma feira livre da região apresenta atividade antioxidante.

Palavras-chave: Atividade antioxidante, Compostos fenólicos, Mel.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE MÉIS PRODUZIDOS NA REGIÃO DO AGRESTE E COMERCIALIZADOS EM UMA FEIRA DO INTERIOR DE PERNAMBUCO

INTRODUÇÃO

As propriedades biológicas do mel são exaustivamente avaliadas uma vez que suas características variam de acordo com a região geográfica e com a florada na qual as abelhas buscam o néctar para produzi-los (THENÓRIO, 2018). Sabe-se que fatores como sazonalidade climática e pluviosidade, características físico-químicas do solo, origem floral, predominância de determinada espécie vegetal, entre outros, interferem na composição e nas propriedades biológicas e químicas do mel (SILVA, 2014; SOUZA, et al., 2018).

O mel é considerado um produto natural produzido por abelhas da espécie *Apis mellifera* obtido através do néctar das flores, secreções ou de excreções de insetos sugadores de partes vivas das plantas; na sua composição estão presentes diferentes tipos de flavonoides e compostos fenólicos, terpenos, ésteres, aldeídos, polissacarídeos e aminoácidos (GHASHMM, et al. 2010; ODA, et al., 2011).

Os compostos bioativos presentes no mel têm lhe conferido um arsenal farmacológico diverso que inclui atividades antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, antiviral, anti-inflamatória, antitumoral, imunomoduladora, entre outras (BONAMIGO, et al., 2017; LEYVA-JIMENEZ, et al., 2018; JIBRIL, et al., 2019; HAU-YAMA, et al., 2019; LORI, et al., 2019; WUSIMAN, et al., 2019).

Estudos relatam o potencial antioxidante de produtos melíferos e seus derivados. A atividade antiradicalar de extratos e frações de mel foram registrados por Silva, et al. (2014), para amostras do mel de angico em estudos *in vitro*. Gomes, et al. (2017), registrou atividade antioxidante de amostras de mel comercializados no oeste do Pará, com capacidade antiradicalar acima de 50%. Souza, et al. (2018), registrou o poder de sequestro de radicais livres por amostra de mel e demonstrou atividade antioxidante significativa com valores médios de 43,34 $\mu\text{molTEAC.100-1g}$.

No estado de Pernambuco a produção melífera é em torno de aproximadamente duas mil toneladas por ano, fazendo o estado ocupar a 4ª colocação como maior produtor da região e o 9º maior produtor do Brasil, conforme os dados do IBGE (2019).

Neste contexto, sabendo que a composição física e química, características sensoriais como sabor e cor do mel e a concentração de seus compostos podem sofrer variações, e que isto implica diretamente na sua composição e propriedades biológicas, percebeu-se uma lacuna na literatura de estudos abordando a atividade antioxidantes de produtos melíferos produzidos na mesorregião do agreste pernambucano, deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar atividade antioxidante de méis produzidos na região do agreste e comercializados em uma feira no interior de Pernambuco.

MÉTODOS

Três amostras de mel foram obtidas de formas aleatórias em diferentes pontos de comercialização em uma feira no interior de Pernambuco, e o critério para escolha foi a

obrigatoriedade de terem sido produzidos em alguma cidade da mesorregião do agreste Pernambucano.

A obtenção do extrato de mel foi feita através da extração em fase sólida usando cartuchos de SPE SILICA[®] (*Applied Separations*). O condicionamento dos cartuchos de SPE foi realizado pela passagem de 10 mL de metanol. 20 mg de mel foi dissolvido em água acidificada 2% HCl e filtrada em algodão.

Em seguida, as amostras foram então percoladas através dos cartuchos em fluxos de 5, 10 e 15 ml com 50 ml de metanol. A solução metanólica de mel obtida da extração foi submetida a rotaevaporação a 40° C até a evaporação total do solvente, obtendo-se então, o extrato metanólico do mel (EMM), conforme a metodologia descrita por Silva, et al. 2014.

A atividade antioxidante *in vitro* dos extratos foi investigada através dos ensaios: Teor de fenólicos totais, atividade sequestradora do radical DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) e atividade sequestradora do cátion radical ABTS.+ (2,2'azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid).

Para avaliar o teor de fenólicos totais foi realizado o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, conforme a metodologia descrita por Pires, et al. (2017) com adaptações. A curva do ácido gálico, construída nas concentrações de 2; 5; 10; 15 e 20 µg/mL, foi utilizada como curva de calibração para interpolação da amostra de EMM por absorbância. 0,5 mL de EMM foi colocado em tudo de ensaio e em seguida foi adicionado 8 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Cicoalteau, a mistura foi homogeneizada e deixada em repouso por 3 minutos, transcorrido esse tempo, foi adicionado 1 mL de solução de carbonato de sódio. Depois de 1 minuto de repouso, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 720 nm. O ensaio foi realizado em triplicatas.

Para realizar o ensaio de DPPH, o EMM foi diluído em etanol nas concentrações 0,05; 0,1; 0,5; 1,0 e 5,0 (v/v). Em placas de 96 poços, separadamente, 1 mL de cada concentração foi colocada em triplicadas nos poços devidamente identificados. Em seguida, foram adicionados 1,0 mL da solução de DPPH 0,02% (p/v), previamente preparada. Após agitação a placa foi deixada em repouso por 30 minutos no escuro.

A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 517 nm. O ácido ascórbico foi usado como controle positivo e a mistura de 3 mL de etanol absoluto, 0,5 mL de etanol 70% e 0,3 mL de DPPH 0,5 nM foi usada como controle negativo. O ensaio foi

realizado em triplicada e a atividade sequestradora do radical DPPH foi calculada segundo a metodologia descrita por Pires, et al. (2017).

A atividade sequestradora do cátion radical ABTS^{•+}, foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Sousa, et al. (2011). Colocou-se 7 mM de ABTS para reagir com 2,45 mM de persulfato de potássio por 14 horas em ausência de luz e à temperatura ambiente. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol até a obtenção de uma solução com absorvância entre 0,9-1,1 no comprimento de onda de 734 nm. Uma mistura contendo 1960 µL da solução de ABTS e 40 µL de EMM foi preparada e deixada em repouso por 20 minutos, em seguida, foi determinada a absorvância em espectrofotômetro a 734 nm. O antioxidante sintético trolox foi usado como solução padrão nas concentrações de 100; 200; 400; 800 e 1,000 µM e as leituras foram realizadas em triplicatas.

Para determinar a atividade antioxidante do EMM foi usado o programa estatístico BioEstat versão 5.0. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as diferenças foram determinadas pelo teste de Tukey, sendo consideradas significativas a um nível de 5% ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

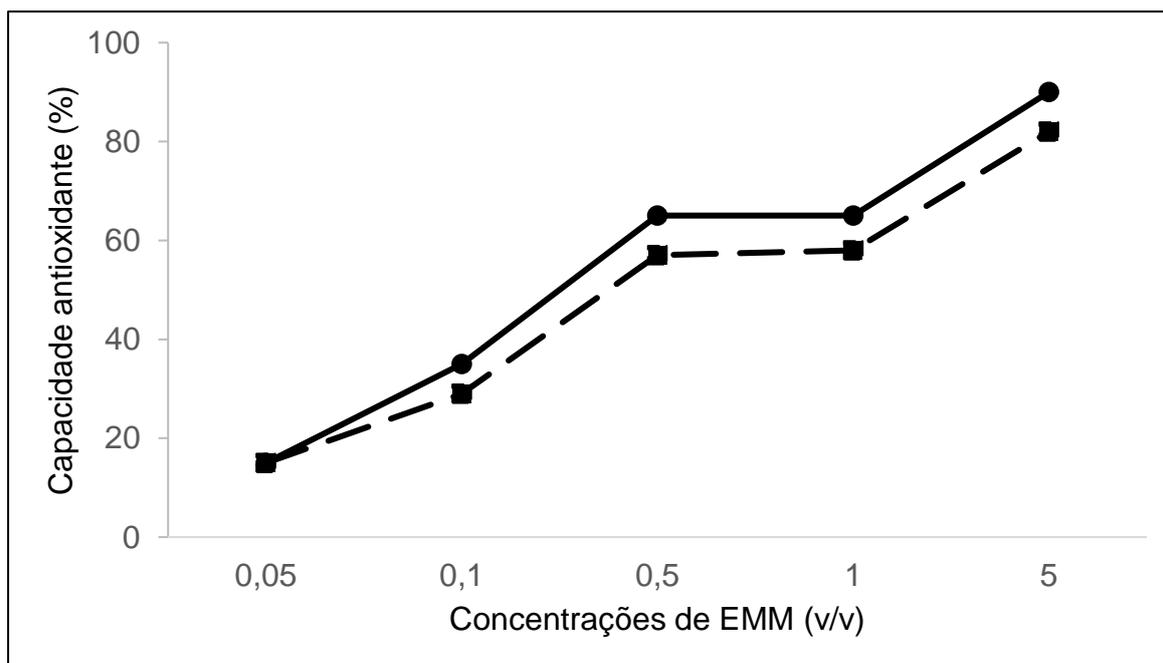
O teor de fenólicos totais do EEM foi de 210,60 mgGAE/100g e exibiu quantidades relevantes de polifenóis, sendo este valor significativo estatisticamente $p \leq 0,05$ quando comparado ao controle positivo.

Os fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que os confere o poder antioxidante (ANGELO, JORGE, 2007). Segundo Machado, et al. (2017), são estes compostos secundários os responsáveis pelas atividades antioxidante, antimicrobiana, antiviral e antitumoral do mel, que contribui com a saúde humana na prevenção de doenças.

A presença de compostos fenólicos em amostras de mel foi observada por Souza, et al. (2018) em amostras melíferas coletadas no estado do Piauí e por Cruz, et al. (2020) em amostras de mel e outros produtos melíferos como própolis e geoprópolis, coletados no estado da Bahia. Diante dos resultados podemos afirmar que o mel produzido na região do agreste e comercializado em uma feira livre do interior de Pernambuco possui teores de fenólicos semelhantes aos méis comercializados em diferentes locais da região nordeste,

exibindo quantidades relevantes de polifenóis. Potencializando o mel desta mesorregião como um alimento antioxidante. A capacidade sequestradora de radicais DPPH pelo EMM está apresentada na **Figura 1**.

Figura 1 – Capacidade antioxidante (sequestro do radical DPPH) do extrato metanólico do mel comercializado em uma feira do interior de Pernambuco.



Legenda: ^a (valores significativos para $p \leq$; Linha inteira (controle positivo); Linha pontilhada (EMM). **Fonte:** Silva, et al., 2020.

Um dos métodos utilizados para avaliar o potencial antioxidante de extratos é o ensaio colorimétrico baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), o qual se caracteriza por uma reação de oxirredução, onde o radical DPPH é reduzido em DPPH-H, identificada por uma mudança da cor inicialmente roxa para amarelo, bem como um decréscimo na absorvância a 515/517 nm (PIRES, et al., 2017).

O extrato EMM apresentou uma capacidade sequestradora do radical DPPH de aproximadamente 80%, sendo este valor significativo quando comparado com o controle positivo (capacidade antioxidante igual a 90%). Os autores Seibert, et al. (2019), observaram uma capacidade sequestradora do radical DPPH de produtos melíferos coletados no estado do Maranhão, nordeste brasileiro, em torno de 80%. O que corrobora os resultados deste trabalho, confirmando a capacidade antioxidante do mel produzido no agreste e comercializado em uma feira livre do interior de Pernambuco

A capacidade sequestradora de radicais ABTS^{•+} do EMM foi equivalente ao do trolox ($EC_{50} = 53,45 \pm 0,5 \mu\text{g/mL}$), indicando uma boa atividade antioxidante do EMM, atividade foi expressa como a capacidade antioxidante total equivalente ao trolox. Estes valores estão abaixo dos obtidos por Seibert, et al. (2019), que em amostras de mel coletadas no estado do Maranhão obtiveram uma $EC_{50} = 1223.06 \pm 137.40 \mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$. Entretanto, os valores obtidos nesta pesquisa são significativos em relação ao controle positivo.

A detecção de compostos fenólicos e a capacidade de sequestrar radicais livres pelo mel produzido no agreste e comercializado em uma feira livre do interior de Pernambuco, permite inferir que este mel se apresenta como um alimento funcional, uma vez que através da sua atividade antioxidante interagindo com os radicais livres, combatendo-os, e assim, auxiliar em vários processos celulares como, por exemplo, prevenção do envelhecimento cutâneo (SOUSA, VIEIRA, LIMA, 2011).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que o extrato metanólico do mel produzido na região do agreste e comercializados em uma feira livre do interior de Pernambuco apresentou elevada quantidade de compostos fenólicos e uma significativa atividade sequestradora dos radicais DPPH e ABTS, mostrando uma correlação entre esses parâmetros, apresentando assim uma atividade antioxidante significativa. Estes achados apontam potencial atividade antioxidante do mel produzido e comercializado na região, aumentando assim o leque de produtos melíferos a ser utilizado pelos consumidores da região, bem como alavancando a produção da região e o seu potencial comercial de produtos funcionais e com atividade antioxidante.

REFERÊNCIAS

1. AVILA S. Determinação de parâmetros de qualidade de mel de abelhas sem ferrão utilizando ferramentas quimiométricas. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Setor de Tecnologia. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019; 136p.
 2. BONAMIGO T, et al. Antioxidant and cytotoxic activity of propolis of *Plebeia droryana* and *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) from the Brazilian Cerrado biome. *Plos One*, 2017; 12: 1-19.
 3. CRUZ L, et al. Determination of physicochemical characteristics and bioactive compounds in samples of pollen, geopropolis and honey from *Melipona Scutellaris* bee species. *Brazilian Journal of Development*, 2020; 6(4): 21484-21496.
-

4. GHASHMM AA, et al. Antiproliferative effect of tualang honey on oral squamous cell carcinoma and osteosarcoma cell lines. *BMC Complemente Alternativeand Medicine*, 2010; 10(9): 1-19.
5. GOMES VV, et al. Avaliação da Qualidade do Mel Comercializado no Oeste do Pará, Brasil, *Revista Virtual de Química*, 2017; 9(2): 815-826.
6. HAU-YAMA NE, et al. Antifungal activity of honey from stingless bee *Melipona beecheii* against *Candida albicans*, *Journal of Apicultural Research*, 2019; 19:2-8.
7. IBGE, 2019. IN: Cidades e Estados. Disponível em <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pe/>. Acesso em 29 set. 2020.
8. JIBRIL FI, et al. Isolation and characterization of polyphenols in natural honey for the treatment of human diseases, *Bulletin of the National Research Centre*, 2019; 43(4):1-9.
9. LEYA-JIMEZEZ FJ, et al. Potential antimicrobial activity of honey phenolic compounds against Gram positive and Gram negative bacteria, *Food, Science and Technology*, 2019: 18: 124.
10. LORI G, et al. Honey extracts inhibit PTP1B, upregulate insulin receptor expression, and enhance glucose uptake in human HepG2 cells, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019; 113: 1-12.
11. MACHADO ALF, et al. Atividade antioxidante em flor de malvavisco (*Malvaviscus arboreus*), *Ensino, Pesquisa e Extensão*, 2019; 10(2): 1-10.
12. ODA JMM, et al. Ação do extrato de própolis na Leishmaniose, *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, 2011; 32(1): 111-121.
13. PIRES J, et al. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. *Revista do Instituto de Biociências da USP*, 2017; 6(2): 1-6.
14. SEIBERT JB, et al. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. *Food Chemistry*, 2019; 13: 61-67.
15. SILVA JLA, et al. Caracterização da produção e qualidade físico-química de méis produzidos no Estado de Pernambuco. *Arquives of Veterinary Science*, 2013; 18(2):64-70.
16. SILVA TMS, et al. Análises químicas e potencial antioxidante do mel de angico produzido pelas abelhas sem-ferrão jandaíra. *Revista Virtual de Química*, 2014; 6(5): 1370-1379.
17. SOUZA AVB, et al. Determinação do teor de fenólicos e atividade antioxidante da cajuína e do mel produzidos no estado do Piauí – Brasil. *Interfaces Científicas: Saúde e Ambiente*, 2018; 6(2): 21-32.
18. SOUSA MSB, et al. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 2011; 33(3): 888-897.
19. WUSIMAN A, et al. Macrophage immunomodulatory activity of the cationic polymer modified PLGA nanoparticles encapsulating Alhagi honey polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019; 134: 730-739.