



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS REITOR JOÃO DAVID FERREIRA LIMA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS  
NÍVEL DOUTORADO

**SILUANA KATIA TISCHER SERAGLIO**

**MEL DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham):  
BIOACESSIBILIDADE E ESTABILIDADE QUÍMICA E BIOATIVA**

Florianópolis

2020

SILUANA KATIA TISCHER SERAGLIO

**MEL DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham):  
BIOACESSIBILIDADE E ESTABILIDADE QUÍMICA E BIOATIVA**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em  
Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de  
Santa Catarina para a obtenção do Título de  
Doutora em Ciência dos Alimentos

Orientadora: Profa. Ana Carolina de Oliveira  
Costa, Dra.

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Seraglio, Siluana Katia Tischer

Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham):  
bioacessibilidade e estabilidade química e bioativa /  
Siluana Katia Tischer Seraglio ; orientadora, Ana  
Carolina de Oliveira Costa, 2020.  
213 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós  
Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Mel de melato de  
bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham). 3. Simulação da  
digestão. 4. Estocagem. 5. Padrão de identidade e  
qualidade. I. Costa, Ana Carolina de Oliveira. II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós  
Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

SILUANA KATIA TISCHER SERAGLIO

**MEL DE MELATO DE BRACATINGA (*MIMOSA SCABRELLA* BENTHAM):  
BIOACESSIBILIDADE E ESTABILIDADE QUÍMICA E BIOATIVA**

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Rodrigo Barcellos Hoff, Dr.  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Profa. Carmen Maria Olivera Müller, Dra.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. André Wust Zibetti, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutora em Ciências dos Alimentos.

---

Profa. Ana Carolina Maisonnave Arisi, Dra.  
Coordenadora do Programa

---

Profa. Ana Carolina de Oliveira Costa, Dra.  
Orientadora

Florianópolis, 10 de março de 2020.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, ao meu pai, minha mãe, meu irmão e irmã que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando em todos os momentos.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos pela estrutura proporcionada, e igualmente a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de doutorado concedida.

À Professora Dra. Ana Carolina de Oliveira Costa por todo o apoio, confiança, compreensão, paciência e conhecimento dados ao longo do doutorado.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina de Lages e aos apicultores pelo fornecimento do mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham).

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, na pessoa de Heitor Daguer, Andressa C. Valese e Luciano Molognoni, pelo caloroso apoio sempre.

Agradeço a todos os colegas de Laboratório, a Professora Dra. Roseane Fett e ao Luciano V. Gonzaga pelo apoio em todos os momentos, pela prontidão, colaboração e descontração.

Agradeço também aos demais amigos e amigas, com carinho especial à Greici Bergamo e Guilherme O. Neves, pelo apoio, compreensão e carinho em todos os momentos que precisei.

## RESUMO

Em crescente valorização no cenário nacional e internacional, o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) – MMB – é produzido em períodos bianuais por abelhas *Apis mellifera* a partir do exsudato açucarado excretado por cochonilhas (*Tachardiella* sp. ou *Stigmatococcus paranaensis* Foldi) fixadas em árvores de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham). Esse mel apresenta coloração escura e características químicas, bioativas e sensoriais diferenciadas dos méis florais, porém ainda pouco se conhece sobre a sua composição química e potenciais efeitos benéficos, especialmente relacionado aos efeitos da digestão *in vitro* e de seu armazenamento. Sendo assim, esse estudo teve como objetivo avaliar o efeito da digestão *in vitro* sobre a capacidade antioxidante e compostos fenólicos e minerais individuais em MMB, bem como investigar a influência do armazenamento desse mel sob condições de temperatura ambiente ( $23,0 \pm 2,3$  °C) ao longo de 24 meses e a temperatura controlada de 40 °C durante quatro meses, em relação à umidade, acidez livre, em lactona e total, pH, atividade diastásica, condutividade elétrica, 5-hidroximetilfurfural, cor, produtos da reação de Maillard, capacidade antioxidante, ácidos orgânicos alifáticos, açúcares, aminoácidos, minerais e compostos fenólicos. Com base nos resultados encontrados, foi possível assumir que os compostos fenólicos e minerais investigados se apresentam satisfatoriamente estáveis ao processo de digestão gástrico e duodenal, sugerindo serem compostos bioacessíveis e potencialmente biodisponíveis. No entanto, a capacidade antioxidante apresentou um declínio, especialmente após a etapa de digestão duodenal, sugerindo que outros constituintes da matriz também possam contribuir para a sua capacidade antioxidante. Em relação à investigação da influência das condições de armazenamento sobre as características físico-químicas e bioativas do MMB, foi verificado que o armazenamento desse mel à temperatura ambiente por tempo prolongado (24 meses) resultou em alterações de diversas características e constituintes, com destaque para acidez livre, 5-hidroximetilfurfural, atividade diastásica, compostos fenólicos, cor, ácidos orgânicos alifáticos, aminoácidos, dentre outros. Quando submetido à temperatura de 40 °C por quatro meses, essas modificações observadas foram intensificadas. Dentre as alterações mais importantes, a acidez livre merece destaque, apresentando resultados (até  $72,97 \pm 0,71$  mEq kg<sup>-1</sup>) acima do limite máximo (50 mEq kg<sup>-1</sup>) estabelecido pelas legislações vigentes. Entretanto, com base nos resultados encontrados para o ácido acético, foi possível sugerir que a alta acidez livre não parece ser originada de fermentação pós-colheita e, portanto, não resultando no comprometimento da qualidade do produto. Ainda, os ácidos glutárico e glutâmico, atividade diastásica, 5-hidroximetilfurfural e produtos da reação de Maillard puderam ser sugeridos como potenciais marcadores químicos de aquecimento prolongado e/ou de estocagem prolongada desse mel. Por fim, foi possível indicar que o armazenamento do MMB em temperaturas altas deve ser evitado e que, relevando os resultados referentes à acidez livre, parece que o armazenamento deste mel em temperatura ambiente por até 12 meses permite que sejam mantidas satisfatoriamente as suas características bioativas, de cor e de qualidade físico-química. É importante destacar ainda que este estudo contribuiu com dados inéditos relacionados ao efeito da digestão *in vitro* sobre minerais, compostos fenólicos e capacidade antioxidante do MMB, bem como sobre o efeito de diferentes condições de estocagem sobre a sua composição, o que contribui para o seu banco de informações científicas. Ainda, esse foi o primeiro estudo a reportar informações relacionadas à bioacessibilidade *in vitro* de compostos fenólicos e referente ao efeito de diferentes condições de armazenamento sobre os compostos fenólicos, minerais e ácidos orgânicos alifáticos em méis.

**Palavras-chave:** Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham). Simulação da digestão. Compostos bioativos. Padrão de identidade e qualidade. Estocagem.

## ABSTRACT

In increasing appreciation in the national and international scenario, bracatinga honeydew honey (*Mimosa scabrella* Benth) – BHH – is produced every two-year by *Apis mellifera* bees from the sugary exudate excreted by plant-sucking insects (*Tachardiella* sp. or *Stigmacoccus paranaensis* Foldi) attached to bracatinga trees (*Mimosa scabrella* Benth). This honey has a dark color and different chemical, bioactive, and sensory characteristics from floral honeys, but few is known about its chemical composition and potential health benefits, especially related to the effects of *in vitro* digestion and storage. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of *in vitro* digestion on the antioxidant capacity and individual phenolic and mineral compounds in BHH, as well as to investigate the influence of storage of this honey under room temperature ( $23.0 \pm 2.3$  °C) conditions over 24 months and on the controlled temperature at 40 °C for four months, in relation to moisture, free, lactone, and total acidity, pH, diastatic activity, electrical conductivity, 5-hydroxymethylfurfural, color, Maillard reaction products, antioxidant capacity, aliphatic organic acids, sugars, amino acids, minerals, and phenolic compounds. Based on the results found, it was possible to assume that the investigated phenolic and mineral compounds are satisfactorily stable to the gastric and duodenal digestion process, suggesting that they are bioaccessible and potentially bioavailable. However, the antioxidant capacity showed a decline, especially after the duodenal digestion, suggesting that other constituents of the matrix may also contribute to its antioxidant capacity. Regarding the investigation of the influence of storage conditions on the physical-chemical and bioactive characteristics of BHH, it was found that the storage of this honey at room temperature for a prolonged period (24 months) resulted in changes in several characteristics and constituents, with emphasis on free acidity, 5-hydroxymethylfurfural, diastatic activity, phenolic compounds, color, aliphatic organic acids, amino acids, among others. When submitted to a temperature of 40 °C for four months, these observed changes were intensified. Among the most important changes, free acidity deserves to be highlighted, presenting results (up to  $72.97 \pm 0.71$  mEq kg<sup>-1</sup>) above the maximum limit (50 mEq kg<sup>-1</sup>) established by current legislation. However, based on the results found for acetic acid, it was possible to suggest that the high free acidity does not appear to originate from post-harvest fermentation and therefore does not result in a compromised of the product quality. In addition, glutaric and glutamic acids, diastatic activity, 5-hydroxymethylfurfural, and Maillard reaction products could be suggested as potential chemical markers for prolonged heating and/or prolonged storage of this honey. Finally, it was possible to indicate that the storage of BHH at high temperatures should be avoided and that, desconsidering the results referring to free acidity, it seems that the storage of this honey at room temperature for up to 12 months allows its bioactive, color, and physico-chemical characteristics to be maintained satisfactorily. It is also important to highlight that this study contributed with unpublished data related to the effect of *in vitro* digestion on minerals, phenolic compounds, and antioxidant capacity of BHH, as well as on the effect of different storage conditions on its composition, which contributes to the your scientific information bank. Still, this was the first study to report information related to *in vitro* bioaccessibility of phenolic compounds and regarding the effect of different storage conditions on phenolic compounds, minerals, and aliphatic organic acids in honeys.

**Keywords:** Bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) honeydew honey. Digestion simulation. Bioactive compounds. Identity and quality standard. Storage.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1.1 – Cochonilha *Tachardiella* sp. encontrada em árvores de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) sob carapaça rígida e com filamento de excreção (A), sem a carapaça e com o filamento ceroso (B), apenas a carapaça e filamento da cochonilha (C) e vista dorsal da cochonilha sem carapaça e filamento (D) 25
- Figura 1.2 – Representação esquemática da fixação da cochonilha no caule da árvore de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) 26
- Figura 1.3 – Procedimento genérico para avaliação da bioacessibilidade *in vitro* 58

### CAPÍTULO 2

- Figura 2.1 – Fluxograma do procedimento de digestão *in vitro* aplicado às amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) 68
- Figura 2.2 – Comportamento da capacidade antioxidante (%) das amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) após a digestão gástrica (A) e duodenal (B) 85

### CAPÍTULO 3

- Figura 3.1 – Teor de umidade de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento 103
- Figura 3.2 – Acidez livre, em lactona e total de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento 105
- Figura 3.3 – Valores de pH de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o tempo e condições de armazenamento 109
- Figura 3.4 – Concentrações de frutose, glicose e maltose em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento 119
- Figura 3.5 – Concentração de 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento 128
- Figura 3.6 – Atividade diastásica de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento 130
- Figura 3.7 – Condutividade elétrica de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento 132

## **CAPÍTULO 4**

- Figura 4.1 – Parâmetros de cor de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* 147  
Bentham) durante o armazenamento ao longo de 24 meses em temperatura ambiente e  
4 meses em temperatura controlada de 40 °C
- Figura 4.2 – Teor de produtos da reação de Maillard de méis de melato de bracatinga 150  
(*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento
- Figura 4.3 – Capacidade antioxidante *in vitro* de méis de melato de bracatinga (*Mimosa* 161  
*scabrella* Bentham) durante o armazenamento

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1.1 – Requisitos físico-químicos de identidade e qualidade para méis, exigidos por organizações nacionais e internacionais | 27 |
| Tabela 1.2 – Carboidratos pesquisados em méis de melato de diferentes origens   | 35 |
| Tabela 1.3 – Estudos relatam a presença de aminoácidos livres em méis de melato de diferentes origens                             | 40 |
| Tabela 1.4 – Ácidos orgânicos de baixa massa molar pesquisados em méis de melato de diferentes origens                            | 45 |
| Tabela 1.5 – Minerais pesquisados em méis de melato de diferentes origens   | 48 |
| Tabela 1.6 – Compostos fenólicos encontrados em méis de melato de diferentes origens  | 52 |

### CAPÍTULO 2

|  |    |
|--|----|
| Tabela 2.1 – Concentração ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) e fração bioacessível (%) de compostos fenólicos individuais das amostras de mel de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham) antes, durante e após a digestão <i>in vitro</i> | 74 |
| Tabela 2.2 – Concentração dos cátions ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) e fração bioacessível (%) das amostras de mel de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham) antes, durante e após a digestão <i>in vitro</i>                                      | 79 |
| Tabela 2.3 – Capacidade antioxidante das amostras de mel de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham) antes, durante e após a digestão <i>in vitro</i>   | 83 |
| Tabela 2.4 – Coeficientes de correlação obtidos entre diferentes parâmetros avaliados antes, durante e após a digestão <i>in vitro</i>   | 90 |

### CAPÍTULO 3

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 3.1 – Localização geográfica e informações sobre méis de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham)  | 97  |
| Tabela 3.2 – Monitoramento das temperaturas de estocagem dos méis de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham)   | 99  |
| Tabela 3.3 – Concentrações dos ácidos orgânicos alifáticos ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ) determinados em méis de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham) durante o armazenamento | 112 |
| Tabela 3.4 – Concentrações de aminoácidos ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ) quantificados em méis de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham) durante o armazenamento                 | 125 |

## CAPÍTULO 4

|   |     |
|---|-----|
| Tabela 4.1 – Teor de minerais ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) quantificados em méis de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham) durante o armazenamento                          | 144 |
| Tabela 4.2 – Teor de compostos fenólicos ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) quantificados em méis de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham) durante o armazenamento | 152 |
| Tabela 4.3 – Coeficientes de correlação obtidos entre diferentes parâmetros avaliados no mel de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham) armazenado                      | 164 |
| Tabela 4.4 – Valores de desejabilidade global de méis de melato de bracatinga ( <i>Mimosa scabrella</i> Bentham) armazenados a temperatura ambiente                                     | 167 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                |   |
|----------------|---|
| -              | Não aplicável   |
| $\gamma$ -Gaba | Ácido $\gamma$ -aminobutírico   |
| 5-HMF          | 5-hidroximetilfurfural  |
| $a^*$          | Intensidade do tom verde ao tom vermelho  |
| AAS            | Espectrometria de absorção atômica (do inglês, <i>atomic absorption spectroscopy</i> )                |
| AES            | Espectrometria de emissão atômica (do inglês, <i>atomic emission spectrophotometer</i> )              |
| alle           | Alo-isoleucina  |
| Ala            | Alanina   |
| AOA            | Ácidos orgânicos alifáticos   |
| APCI           | Ionização química à pressão atmosférica (do inglês, <i>atmospheric pressure chemical ionization</i> ) |
| Arg            | Arginina  |
| Asn            | Asparagina  |
| Asp            | Ácido aspártico   |
| $A_w$          | Atividade de água   |
| $b^*$          | Intensidade do tom azul ao tom amarelo  |
| BGE            | Eletrólito de corrida (do inglês, <i>background electrolyte</i> )                                     |
| BS             | Bocaina do Sul  |
| CD             | Detector por condutividade (do inglês, <i>conductivity detector</i> )                                 |
| CE             | Eletroforese capilar (do inglês, <i>capillary electrophoresis</i> )                                   |
| Ce             | Energia de colisão (do inglês, <i>collision energy</i> )  |
| CXP            | Potencial de saída da célula de colisão (do inglês, <i>collision cell exit potential</i> )            |
| Cys            | Cisteína  |
| $D$            | Desejabilidade global   |
| DAD            | Detector de arranjo de diodos (do inglês, <i>diode array detector</i> )                               |
| $d$            | Desejabilidade individual   |
| DPo            | Potencial de agrupamento (do inglês, <i>declustering potential</i> )                                  |
| DPPH           | 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (do inglês, <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> )                      |
| DRI            | Diferencial de índice de refração (do inglês, <i>differential refractive index</i> )                  |

|        |   |
|--------|---|
| EA     | Etilamina   |
| EAA    | Equivalente a ácido ascórbico   |
| EAG    | Equivalente a ácido gálico  |
| EP     | Potencial de entrada (do inglês, <i>entrance potential</i> )  |
| EPAGRI | Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina   |
| ESI    | Ionização por eletronebulização (do inglês, <i>electrospray ionization</i> )  |
| F1     | Fase móvel constituída de água acidificada com 0,1 % de ácido fórmico   |
| F2     | Fase móvel constituída de acetonitrila adicionada de 0,1 % de ácido fórmico   |
| FAAS   | Espectrometria de absorção atômica de chama (do inglês, <i>flame atomic absorption spectroscopy</i> )                 |
| FB     | Fração bioacessível   |
| FC     | Capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu  |
| F+G    | Soma frutose + glicose  |
| FID    | Detector por ionização de chama (do inglês, <i>flame-ionization detector</i> )  |
| FLD    | Detector de fluorescência (do inglês, <i>fluorescence detector</i> )  |
| FRAP   | Capacidade antioxidante de redução do ferro (do inglês, <i>ferric reducing antioxidant power</i> )                    |
| GC     | Cromatografia a gás (do inglês, <i>gas chromatography</i> )   |
| Gln    | Glutamina   |
| Glu    | Ácido glutâmico   |
| Gly    | Glicina   |
| Gpr    | Glicil-prolina  |
| His    | Histidina   |
| Hly    | Hidroxilisina   |
| HPAEC  | Cromatografia de alta eficiência por troca iônica (do inglês, <i>high-performance anion-exchange chromatography</i> ) |
| HPLC   | Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, <i>high performance liquid chromatography</i> )                  |
| Hser   | Homoserina  |
| Hyp    | Hidroxiprolina  |
| I%     | Porcentagem de inibição   |
| IC     | Cromatografia iônica (do inglês, <i>ion-chromatography</i> )  |
| ICP    | Plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>inductively coupled plasma</i> )   |

|                    |   |
|--------------------|---|
| Ile                | Isoleucina  |
| $L^*$              | Luminosidade  |
| LC                 | Cromatografia líquida (do inglês, <i>liquid chromatography</i> )                              |
| LD                 | Limite de detecção  |
| Leu                | Leucina   |
| Leu/Ileu           | Leucina/isoleucina  |
| LG                 | Lages   |
| LQ                 | Limite de quantificação   |
| Lys                | Lisina  |
| M                  | Mineral   |
| $m$                | Número de variáveis avaliadas   |
| mEq                | mili equivalente  |
| Met                | Metionina   |
| MRP                | Produtos da reação de Maillard (do inglês, <i>Maillard reaction products</i> )                |
| MRP <sub>min</sub> | Menor valor dos produtos da reação de Maillard obtido experimentalmente                       |
| MRP <sub>max</sub> | Maior valor dos produtos da reação de Maillard obtido experimentalmente                       |
| mS                 | mili Siemens  |
| MS                 | Espectrometria de massas (do inglês, <i>mass spectrometry</i> )                               |
| MS/MS              | Espectrometria de massas em tandem (do inglês, <i>mass spectrometry/mass spectrometry</i> )   |
| nd                 | Não determinado   |
| ni                 | Não informado   |
| NMR                | Ressonância magnética nuclear (do inglês, <i>nuclear magnetic resonance</i> )                 |
| OES                | Espectrometria de emissão óptica (do inglês, <i>optical emission spectroscopy</i> )           |
| Orn                | Ornitina  |
| PAD                | Detecção amperométrica pulsada (do inglês, <i>pulsed amperometric detection</i> )             |
| Phe                | Fenilalanina  |
| Php                | Prolina-hidroxiprolina  |
| Pro                | Prolina   |
| Q1                 | Massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ) do íon precursor no modo positivo ou negativo             |
| Q3                 | Massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ) do íon de quantificação e de confirmação, respectivamente |
| R                  | Respostas   |

|                  |   |
|------------------|---|
| RID              | Detector de índice de refração (do inglês, <i>refractive index detector</i> )   |
| R <sub>min</sub> | Menor valor das respostas obtido experimentalmente  |
| R <sub>max</sub> | Maior valor das respostas obtido experimentalmente  |
| Sar              | Sarcosina   |
| SDS              | Dodecil sulfato de sódio (do inglês, <i>sodium dodecyl sulfate</i> )  |
| Ser              | Serina  |
| SFMS             | Espectrometria de massas de setor de campo (do inglês, <i>sector field mass spectrometry</i> )                                      |
| TA               | Temperatura ambiente  |
| Tau              | Taurina   |
| TBS              | Tetraborato de sódio (do inglês, <i>sodium tetraborate</i> )  |
| TC               | Temperatura controlada de 40 °C   |
| Thr              | Treonina  |
| Tpr              | Tioprolina  |
| TPTZ             | 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina  |
| Trp              | Triptofano  |
| TXRF             | Espectrometria de fluorescência de raios-X com reflexão total (do inglês, <i>total reflection x-ray fluorescence spectrometry</i> ) |
| Tyr              | Tirosina  |
| UA               | Unidades de absorvância   |
| UFSC             | Universidade Federal de Santa Catarina  |
| UPLC             | Cromatografia líquida de ultra eficiência (do inglês, <i>ultra performance liquid chromatography</i> )                              |
| UR               | Urupema   |
| UV-Vis           | Ultravioleta e visível  |
| Val              | Valina  |
| $\alpha$ -Aaa    | Ácido $\alpha$ -aminoadípico  |
| $\alpha$ -Aba    | Ácido $\alpha$ -aminobutírico   |
| $\alpha$ -Ala    | $\alpha$ -Alanina   |
| $\alpha$ -Apa    | Ácido $\alpha$ -aminopimélico   |
| $\beta$ -Aba     | Ácido $\beta$ -aminobutírico  |
| $\beta$ -Aib     | Ácido $\beta$ -aminoisobutírico   |
| $\beta$ -Ala     | $\beta$ -Alanina  |

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA</b>  | 19 |
| <b>OBJETIVOS</b>   | 21 |
| Objetivo geral   | 21 |
| Objetivos específicos  | 21 |
| <b>CAPÍTULO 1 – Revisão bibliográfica</b>  | 22 |
| <b>1 Definição e descrição do mel</b>  | 23 |
| <b>2 Bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Benth.)</b>   | 24 |
| 2.1 Cochonilhas ( <i>Tachardiella</i> sp. ou <i>Stigmacoccus paranaensis</i> Foldi)  | 25 |
| <b>3 Parâmetros de identidade e qualidade do mel</b>   | 27 |
| <b>4 Vida útil do mel</b>  | 28 |
| <b>5 Principais meios de degradação de compostos do mel</b>  | 30 |
| 5.1 Degradação microbiológica e biológica  | 30 |
| 5.2 Escurecimento não enzimático   | 31 |
| 5.3 Outros compostos suscetíveis à degradação  | 34 |
| <b>6 Principais classes de compostos encontrados em méis de melato e sua estabilidade</b>  | 35 |
| 6.1 Açúcares   | 35 |
| 6.1.1 Estudos sobre a estabilidade de açúcares e produtos de degradação em méis  | 38 |
| 6.2 Aminoácidos  | 40 |
| 6.2.1 Estudos sobre a estabilidade de aminoácidos  | 43 |
| 6.3 Ácidos orgânicos alifáticos  | 44 |
| 6.3.1 Estudos sobre a estabilidade de ácidos orgânicos alifáticos  | 46 |
| 6.4 Minerais   | 47 |
| 6.4.1 Estudos sobre a estabilidade de minerais   | 51 |
| 6.5 Compostos fenólicos  | 51 |
| 6.5.1 Estudos sobre a estabilidade de compostos fenólicos  | 55 |
| <b>7 Bioacessibilidade</b>   | 57 |
| 6.1 Bioacessibilidade de compostos em méis   | 59 |
| <b>CAPÍTULO 2 – Efeito da digestão gastrointestinal <i>in vitro</i> na bioacessibilidade de compostos fenólicos, minerais e capacidade antioxidante em mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham)</b> | 61 |
| <b>Resumo</b>  | 62 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>1 Introdução</b>   | 63  |
| <b>2 Materiais e métodos</b>  | 65  |
| 2.1 Reagentes e soluções  | 65  |
| 2.2 Amostras  | 66  |
| 2.2.1 Preparo das amostras  | 67  |
| 2.3 Procedimento de simulação da digestão gastrointestinal  | 68  |
| 2.4 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>   | 69  |
| 2.4.1 Capacidade antioxidante de redução do ferro (FRAP)  | 69  |
| 2.4.2 Capacidade de desativação de radicais DPPH  | 70  |
| 2.4.3 Capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu (FC)   | 70  |
| 2.5 Determinação de compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS  | 71  |
| 2.6 Determinação de minerais por CE-DAD   | 72  |
| 2.7 Análise estatística   | 72  |
| <b>3 Resultados e discussão</b>   | 73  |
| 3.1 Compostos fenólicos individuais   | 73  |
| 3.2 Minerais  | 79  |
| 3.3 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>   | 82  |
| 3.4 Correlação entre a capacidade antioxidante, fenólicos individuais e minerais  | 89  |
| <b>4 Conclusão</b>  | 93  |
| <b>CAPÍTULO 3 – Efeitos do armazenamento em parâmetros de qualidade de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) do planalto catarinense</b> | 94  |
| <b>Resumo</b>   | 95  |
| <b>1 Introdução</b>   | 96  |
| <b>2 Materiais e métodos</b>  | 97  |
| 2.1 Amostras  | 97  |
| 2.2 Estudo do tempo de vida útil do mel de melato de bracatinga   | 98  |
| 2.3 Reagentes e soluções  | 99  |
| 2.4 Determinação da umidade, acidez (livre, lactona e total), pH, atividade diastásica e condutividade elétrica   | 100 |
| 2.5 Determinação simultânea de ácidos orgânicos alifáticos e aminoácidos  | 100 |
| 2.6 Determinação de carboidratos  | 101 |
| 2.7 Determinação de 5-hidroximetilfurfural  | 101 |
| 2.8 Análise estatística   | 102 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>3 Resultados e discussão</b>  | 102 |
| 3.1 Umidade  | 102 |
| 3.2 Acidez e pH  | 104 |
| 3.3 Ácidos orgânicos alifáticos  | 111 |
| 3.4 Açúcares   | 118 |
| 3.5 Aminoácidos  | 124 |
| 3.6 5-Hidroxiacetilfurfural  | 127 |
| 3.7 Atividade diastásica   | 130 |
| 3.8 Condutividade elétrica   | 132 |
| <b>4 Conclusão</b>   | 134 |
| <b>CAPÍTULO 4 – Influência do armazenamento na estabilidade da cor e compostos bioativos presentes em méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) do planalto catarinense</b> | 136 |
| <b>Resumo</b>  | 137 |
| <b>1 Introdução</b>  | 138 |
| <b>2 Materiais e métodos</b>   | 139 |
| 2.1 Amostras e estudo do tempo de vida útil do mel de melato de bracatinga   | 139 |
| 2.2 Reagentes e soluções   | 139 |
| 2.3 Determinação de minerais   | 140 |
| 2.4 Cor  | 140 |
| 2.5 Produtos da reação de Maillard   | 140 |
| 2.6 Determinação de compostos fenólicos individuais  | 141 |
| 2.7 Determinação da capacidade antioxidante <i>in vitro</i>  | 141 |
| 2.8 Análise estatística  | 141 |
| <b>3 Resultados e discussão</b>  | 142 |
| 3.1 Minerais   | 142 |
| 3.2 Parâmetros de cor  | 146 |
| 3.3 Produtos da reação de Maillard   | 149 |
| 3.4 Compostos fenólicos  | 151 |
| 3.5 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>  | 160 |
| 3.6 Análise de correlação  | 164 |
| 3.7 Desejabilidade global  | 167 |
| <b>4 Conclusão</b>   | 168 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS</b>  | 169 |
| <b>REFERÊNCIAS</b>  | 171 |
| <b>ANEXO A – Parâmetros operacionais otimizados para análise de compostos fenólicos utilizando o monitoramento de reações múltiplas em modo positivo ou negativo</b>  | 199 |
| <b>ANEXO B – Parâmetros de validação para os compostos fenólicos avaliados</b>  | 201 |
| <b>ANEXO C – Parâmetros de validação para 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), ácidos orgânicos alifáticos e aminoácidos</b>   | 203 |
| <b>ANEXO D – Coeficientes de correlação obtidos entre diferentes parâmetros avaliados no mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) estocado</b>   | 206 |
| <b>ANEXO E – Umidade, açúcares, condutividade elétrica, acidez, pH, atividade diastásica e 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) durante o armazenamento</b>                                       | 207 |
| <b>ANEXO F – Critérios de desejabilidade utilizados para calcular a desejabilidade individual e a desejabilidade global em méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) estocados a temperatura ambiente</b>                                | 210 |
| <b>ANEXO G – Parâmetros de cor (<math>L^*</math>, <math>a^*</math>, <math>b^*</math>), produtos da reação de Maillard e capacidade antioxidante <i>in vitro</i> de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) durante o armazenamento</b> | 212 |



## INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O mel é um produto natural utilizado tradicionalmente como adoçante e para aplicações terapêuticas. Os efeitos benéficos atribuídos a esse produto incluem especialmente ação antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante, avaliados por meio de estudos clínicos e ensaios *in vitro* (BUENO-COSTA et al., 2016; KASSIM et al., 2012; MAYER et al., 2014; NASUTI et al., 2006; ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2016). Essas propriedades estão fortemente vinculadas à presença de compostos bioativos no mel, tais como compostos fenólicos, minerais, aminoácidos, entre outros (BUENO-COSTA et al., 2016; EREJUWA; SULAIMAN; AB WAHAB, 2012; ESCUREDO et al., 2013; PÉREZ et al., 2007; SAXENA; GAUTAM; SHARMA, 2010). Algumas estratégias de estudos *in vitro* são amplamente empregadas como forma de prever o comportamento *in vivo* de diversos compostos bioativos presentes em méis, assim como em outras matrizes. Nesse contexto, a simulação da digestão gastrointestinal tem se mostrado uma ferramenta útil e cada vez mais utilizada para o conhecimento de possíveis influências promovidas por esse sistema e pela própria matriz alimentar, na potencialidade de um ou vários componentes serem absorvidos pelo organismo (bioacessibilidade) (HELAL et al., 2014; PINACHO et al., 2015; TAGLIAZUCCHI et al., 2010; WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011)

Os méis de melato são produzidos por abelhas do gênero *Apis mellifera* a partir de secreções de partes vivas de plantas e/ou de excreções de insetos sugadores dessas plantas, enquanto os méis florais são produzidos a partir do néctar de flores (BRASIL, 2000; EUROPEAN COMMISSION, 2002). Os méis de melato são normalmente diferenciados dos méis florais pelos elevados valores de pH, condutividade elétrica, teor de cinzas, polissacarídeos e proteínas, menores teores de monossacarídeos, além de coloração escura e características sensoriais diferenciadas (BOGDANOV; RUOFF; PERSANO-ODDO, 2004; ESCUREDO et al., 2013; MATEO; BOSCH-REIG, 1998). Ainda, elevados teores de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, além de atividade antimicrobiana são comumente reportados para esse tipo de mel (BERTONCELJ et al., 2007; CAN et al., 2015; OSÉS et al., 2016; VELA; LORENZO; PÉREZ, 2007).

A bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) é uma espécie arbórea nativa do Brasil com distribuição predominante na região sul. Devido ao ciclo de vida das cochonilhas, em períodos bianuais, essas árvores são infestadas por cochonilhas (*Tachardiella* sp. ou *Stigmatococcus paranaensis* Foldi), as quais fixam-se e se alimentam da seiva da árvore, excretando substâncias açucaradas (melato) que são coletadas por abelhas do gênero *Apis mellifera*. A partir dessa

associação é então produzido o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), normalmente nos meses de janeiro a junho, correspondendo aos períodos de maior escassez de néctar e pólen, e sempre em anos pares (MARTINS; ORTH; NARDI, 2003; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; MOREIRA et al., 2011; ORTH; MARTINS, 2003; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015).

O mel de melato de bracatinga possui um alto valor de mercado no cenário internacional, com grandes volumes exportados para a Europa. Atualmente, tem experimentado também uma crescente valorização no mercado nacional, principalmente devido à ampla divulgação de suas propriedades nutricionais e bioativas, na maioria das vezes superiores aos méis de origem floral (AZEVEDO et al., 2017a, 2017b; BERGAMO et al., 2018, 2019a; CAMPOS et al., 2003; MARIANO-DA-SILVA; MARIANO-DA-SILVA; COSTA-NETTO, 2011; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; SERAGLIO et al., 2016; SILVA et al., 2019a). Todos esses fatores reforçam a importância de ampliação dos estudos relacionados à elucidação das características nutricionais, físico-químicas e bioativas deste mel. Além disso, informações relacionadas à influência da digestão *in vitro* sobre a capacidade antioxidante e o comportamento químico de compostos fenólicos e minerais em méis ainda são escassos, estimulando o seu estudo (BILUCA et al., 2017; O’SULLIVAN et al., 2013; POHL et al., 2012c). Adicionalmente, uma vez que o mel de melato de bracatinga é uma matriz relativamente ainda pouco estudada e conhecida, e com uma característica peculiar de produção bianual, torna-se imprescindível conhecer as possíveis alterações físico-químicas e bioativas sofridas por esse mel ao longo do seu armazenamento, uma vez que não existem até o presente momento relatos a respeito desse comportamento.

Sendo assim, com vistas à valorização de um produto regional ainda pouco explorado e com altos volumes de exportação, bem como pela escassez de informações relacionadas a essa matriz, esse estudo propõe avaliar os efeitos provocados pela digestão *in vitro* sobre a capacidade antioxidante e características químicas e bioativas dos compostos presentes em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), bem como investigar os efeitos promovidos pelo seu armazenamento sobre as mesmas características.

## OBJETIVOS

### Objetivo geral

Avaliar a influência da digestão *in vitro* e do armazenamento sobre constituintes e capacidade antioxidante do mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) do planalto catarinense.

### Objetivos específicos

- Avaliar a influência da digestão *in vitro* (etapa gástrica e duodenal) com relação à capacidade antioxidante, compostos fenólicos e minerais de méis de melato de bracatinga.
- Monitorar a influência do armazenamento à temperatura ambiente durante 24 meses e à temperatura controlada de 40 °C por quatro meses de méis de melato de bracatinga sobre os parâmetros de identidade e qualidade (açúcares, umidade, pH, acidez, atividade diastásica, cor, condutividade elétrica, 5-hidroximetilfurfural); produtos da reação de Maillard; capacidade antioxidante *in vitro*; e perfil e concentração de ácidos orgânicos alifáticos, aminoácidos, minerais e compostos fenólicos.
- Verificar a existência de marcadores de degradação com base nos dados obtidos durante o período de armazenamento estudado.
- Estabelecer uma faixa de tempo segura para o consumo do mel de melato de bracatinga a partir dos indicadores avaliados durante o período de armazenamento estudado.

## **CAPÍTULO 1 – Revisão bibliográfica**

Dados apresentados neste Capítulo fazem parte do artigo publicado no periódico Food Research International (DOI: 10.1016/j.foodres.2019.01.028)

## 1 Definição e descrição do mel

O mel é definido como um produto alimentício produzido a partir do néctar de flores ou principalmente de secreções adocicadas de partes vivas de plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas, originando o mel floral e o mel de melato, respectivamente. Estas substâncias são recolhidas por abelhas melíferas (*Apis mellifera*), que transformam e combinam com substâncias próprias e armazenam este produto nos favos da colmeia onde irá madurar originando ao final deste processo o mel (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002; MERCOSUL, 1999).

Em relação a origem dos méis, o mel floral pode ser classificado ainda como unifloral ou monofloral quando oriundo majoritariamente de flores de uma mesma família, gênero ou espécie, ou multifloral (ou polifloral) quando obtido a partir de diversas origens florais (BRASIL, 2000; MERCOSUL, 1999). A mistura natural do mel de melato com mel floral pode ocorrer nas colmeias nos períodos do ano onde existe disponibilidade de néctar e também de melato, compreendendo especialmente o início do verão e o final do inverno (MARENDA et al., 2011). Este tipo de mel também é considerado como mel de melato por algumas organizações regulamentadoras como Mercosul e pela legislação brasileira, desde que atenda aos limites estabelecidos para os parâmetros de identidade e qualidade referentes ao mel de melato, como teor de cinzas, açúcares redutores e sacarose aparente (BRASIL, 2000; MERCOSUL, 1999).

Independente da sua origem botânica, o mel é considerado uma matriz complexa constituída de centenas de compostos (AL et al., 2009; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2010), sendo os componentes majoritários os carboidratos, com predominância dos monossacarídeos frutose e glicose, variando normalmente de 65 a 80% (peso úmido) de sua constituição. Como segundo componente encontrado em maior concentração está a água, variando normalmente de 15 a 20% da composição do mel (AL et al., 2009; ESCUREDO et al., 2013; FECHNER et al., 2016), seguida de outras substâncias presentes em concentrações menores, tais como ácidos orgânicos, minerais, vitaminas, enzimas, polifenóis, carotenoides, lipídeos, compostos aromáticos, aminoácidos, entre outros (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; ESCUREDO et al., 2013; KAROUI et al., 2007). Muitos destes constituintes são adicionados pelas abelhas (como enzimas e aminoácidos), outros são derivados da matéria prima (néctar, pólen, secreções de plantas ou excreções de insetos, como compostos fenólicos, minerais e compostos voláteis) ou ainda formados durante a maturação do mel (como compostos de degradação, compostos voláteis e ácidos orgânicos) (ANKLAM,

1998; KAROUI et al., 2007). Ainda, a cor, sabor, aroma e consistência apresentam grande variação, fortemente dependente da origem botânica do mel (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002).

## **2 Bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.)**

No Brasil, diversas plantas podem ser exploradas como apícolas, especialmente por abelhas da espécie *Apis mellifera*, variando de acordo com a região (BARTH, 2005). Na região sul do Brasil, espécies pertencentes às famílias Myrtaceae, Anacardiaceae, Asteraceae e Fabaceae podem ser destacadas como as mais exploradas como plantas apícolas, entre as quais destacam-se a guabirobeira, guamirim, pitangueira, aroeira-braba, corticeira-do-banhado, eucalipto, vassoura (carqueja), bracatinga, e outras plantas silvestres (BENDER; BARBOSA; DE SOUZA, 2007; SALOMÉ; ORTH, 2003; WOLFF et al., 2008). A menor percentagem de florescimento da grande maioria das plantas apícolas ocorre normalmente no período de março a julho em Santa Catarina. Neste período, o suprimento das colmeias por meio da utilização de excreções açucaradas produzidas a partir da associação entre cochonilhas e bracatinga se mostra de extrema importância (SALOMÉ; ORTH, 2003).

A *Mimosa scabrella* Benth., popularmente conhecida como bracatinga, é uma espécie arbórea de crescimento rápido com ocorrência normalmente associada com a Floresta de Araucária (*Araucaria angustifolia*) (CARPANEZZI et al., 1988; MOREIRA et al., 2011). A bracatinga é nativa do Brasil e tem ocorrência predominante nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, em locais de clima frio, altitudes entre 500 a 1200 m e sem déficit hídrico (DAHMER et al., 2013; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; SOMARRIBA; KASS, 2001).

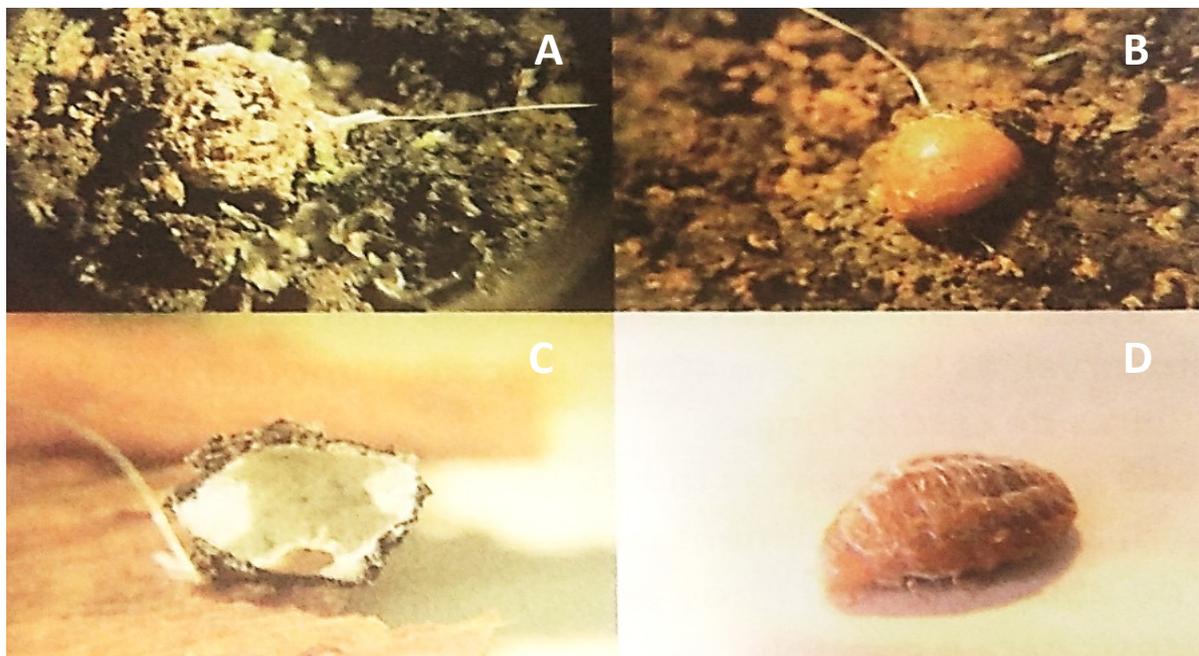
A bracatinga pertence à família Fabaceae, gênero *Mimosa* e espécie *scabrella*. O cultivo da *Mimosa scabrella* Bentham é realizado por pequenos e médios produtores de maneira isolada ou juntamente com outras culturas agrícolas, podendo ser explorada para a produção de mel (CARVALHO, 2002; DAHMER et al., 2013; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014). Em Santa Catarina, esta espécie fornece néctar e pólen principalmente entre os meses de julho e setembro, havendo a produção de mel floral de bracatinga e durante épocas de falta destes, a associação entre a bracatinga e cochonilha faz com que esse inseto produza secreções que são coletadas por abelhas para produção do mel de melato de bracatinga (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; MOREIRA et al., 2011; ORTH; MARTINS, 2003)

## 2.1 Cochonilhas (*Tachardiella* sp. ou *Stigmacoccus paranaensis* Foldi)

Pertencentes à ordem Homoptera, família Lacifferidae (CARPANEZZI et al., 1988; CARVALHO, 2002), as cochonilhas do gênero *Tachardiella* sp. são um dos insetos amplamente associados com os bracatingais (CARVALHO, 2002; MARTINS; ORTH; NARDI, 2003; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014). No entanto, cochonilhas da espécie *Stigmacoccus paranaensis* Foldi também foram associadas à bracatinga, sendo evidenciada a produção de melato por esses insetos e consequentemente a produção do mel de melato de bracatinga (WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015).

Quando adultas ou próximas a este estágio, as fêmeas do gênero *Tachardiella* sp., se tornam sedentárias, apresentando uma carapaça rígida e espessa de cor pardo-avermelhada com a função de proteção do inseto (MARTINS; ORTH; NARDI, 2003), como demonstrado na Figura 1.1.

Figura 1.1 – Cochonilha *Tachardiella* sp. encontrada em árvores de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) sob carapaça rígida e com filamento de excreção (A), sem a carapaça e com o filamento ceroso (B), apenas a carapaça e filamento da cochonilha (C) e vista dorsal da cochonilha sem carapaça e filamento (D)

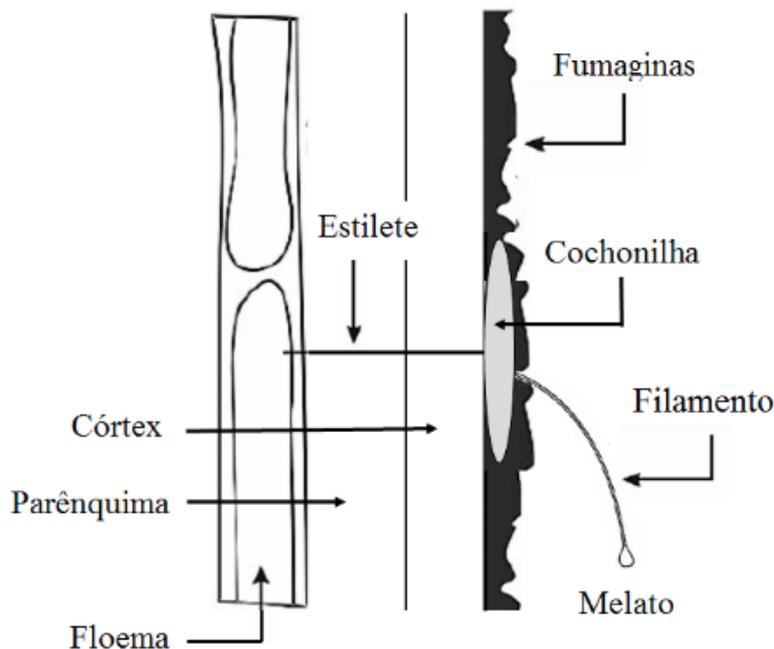


Fonte: Adaptado de Mazuchowski, Rech e Toresan (2014).

Nesta fase, as cochonilhas fixam-se principalmente sobre o caule e ramos de plantas hospedeiras, como a bracatinga e ingá. É importante destacar que, apesar da infestação poder

ocorrer em outras plantas além da bracatinga, a excreção de melato não é suficiente para a produção deste mel. Quando esta infestação é muito intensa, pode ocorrer certo enfraquecimento da bracatinga e dificuldades de respiração e transpiração (CARPANEZZI et al., 1988; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014). Como apresentado na Figura 1.2, as cochonilhas inserem o seu estilete até atingir o floema da planta onde a seiva é sugada para alimentação do inseto. Através de um longo filamento ceroso branco emitido pelas cochonilhas são excretadas excreções açucaradas (na forma de gotas), também conhecidas como melatos ou exsudatos, que são posteriormente coletadas por abelhas da espécie *Apis mellifera* para produção do mel de melato de bracatinga (CARPANEZZI et al., 1988; MARTINS; ORTH; NARDI, 2003). Pode haver ainda a proliferação de fungos do gênero *Capnodium* no melato e também sobre a carapaça rígida das cochonilhas (MARIANO-DA-SILVA; MARIANO-DA-SILVA; COSTA-NETTO, 2011; MARTINS; ORTH; NARDI, 2003).

Figura 1.2 – Representação esquemática da fixação da cochonilha no caule da árvore de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham)



Fonte: Adaptado de Chamorro, Nates-Parra e Kondo (2013).

A produção de exsudato pelas cochonilhas apresenta um padrão bianual, devido ao ciclo de vida do inseto (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WITTER et al., 2010). Desta forma, a produção do mel de melato de bracatinga também ocorre a cada dois anos, mais intensamente entre os meses de janeiro a maio, período em que a excreção de exsudato é mais intensa (MARTINS; ORTH; NARDI, 2003; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014).

### 3 Parâmetros de identidade e qualidade do mel

Visando garantir a identidade, requisitos mínimos de qualidade e segurança do mel para consumo humano, diferentes organizações regulamentadoras nacionais e internacionais estabelecem normas que definem os padrões de identidade e qualidade a serem cumpridos para ambos os méis (floral e melato de diferentes origens), como apresentado na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 – Requisitos físico-químicos de identidade e qualidade para méis, exigidos por organizações nacionais e internacionais

| Parâmetro   | Brasil (2020) e Mercosul (1999) |                                | Codex Alimentarius Commission (2001) e European Commission (2002) |   |
|---|---------------------------------|--------------------------------|---|---|
|   | Tipo do mel                     | Valor estabelecido             | Tipo do mel   | Valor estabelecido  |
| Soma de frutose e glicose (g 100 g <sup>-1</sup> )  | -                               | -                              | Floral<br>Melato e misturas com florais                           | Mínimo 60<br>Mínimo 45  |
| Açúcares redutores (g 100 g <sup>-1</sup> )         | Floral<br>Melato                | Mínimo 65<br>Mínimo 60         | -   | -   |
| Umidade (g 100 g <sup>-1</sup> )                    | Floral/melato                   | Máximo 20                      | Méis no geral   | Máximo 20   |
| Sacarose (g 100 g <sup>-1</sup> )                   | Floral<br>Melato                | Máximo 6<br>Máximo 15          | Méis no geral   | Máximo 5  |
| Sólidos insolúveis em água (g 100 g <sup>-1</sup> ) | Floral/melato                   | Máximo 0,1*                    | Méis no geral não prensados                                       | Máximo 0,1  |
| Minerais (Cinzas - g 100 g <sup>-1</sup> )          | Floral<br>Melato                | Máximo 0,6<br>Máximo 1,2       | -   | -   |
| Condutividade elétrica (mS cm <sup>-1</sup> )       | -                               | -                              | Méis no geral<br>Melato e outros méis específicos                 | Máximo 0,8<br>Mínimo 0,8  |
| Acidez (mEq kg <sup>-1</sup> )                      | Floral/melato                   | Máximo 50                      | Méis no geral   | Máximo 50   |
| Atividade diastásica                                | Floral/melato                   | Mínimo 8**<br>(unidades Göthe) | Méis no geral<br>Méis naturalmente com baixo teor enzimático      | Mínimo 8<br>(unidades Shade)<br>Mínimo 3***<br>(unidades Shade) |
| 5-Hidroximetilfurfural (mg kg <sup>-1</sup> )       | Floral/melato                   | Máximo 60                      | Méis no geral<br>Méis de origem tropical                          | Máximo 40<br>Máximo 80  |

Legenda: \* Exceto no mel prensado, com tolerância de até 0,5 g 100 g<sup>-1</sup>, unicamente em produtos para venda direta ao público; \*\* Méis com baixo teor enzimático devem apresentar valor de no mínimo 3 unidades Göthe, sempre

que o teor de 5-hidroximetilfurfural não exceder  $15 \text{ mg kg}^{-1}$ ; \*\*\* Sempre que o teor de hidroximetilfurfural não exceder  $15 \text{ mg kg}^{-1}$ ; mEq – mili equivalentes; mS – mili Siemens.

**Fonte:** Adaptado de Brasil (2000), Mercosul (1999), Codex Alimentarius Commission (2001) e European Commission (2002).

De acordo com a Tabela 1.1, observa-se que os parâmetros exigidos para a identidade e qualidade do mel são próximos entre diferentes legislações, sendo a principal diferença a determinação de cinzas pela legislação brasileira e Mercosul, e a determinação da condutividade elétrica por outras organizações internacionais. Os valores máximos e mínimos estabelecidos para cada parâmetro também são similares entre as diferentes organizações regulamentadoras.

Além das especificações físico-químicas, também é estabelecido que o mel não deve apresentar indícios de fermentação, ser adicionado de açúcares e/ou substâncias que venham a modificar a sua composição original, tais como aditivos ou conter contaminantes como metais pesados e pesticidas (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002; MERCOSUL, 1999). Quando houver o processamento ou aquecimento do mel estes não devem comprometer a composição e qualidade do mesmo. Ademais, tratamentos químicos e/ou bioquímicos não devem ser utilizados com objetivo de influenciar na cristalização do mel (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). Apesar de não serem claramente definidos pelas organizações regulamentadoras, devido à grande variabilidade causada pela origem botânica do mel, parâmetros sensoriais como cor, aroma e estado físico são características de qualidade do mel observadas e fortemente consideradas pelos consumidores (AL et al., 2009).

Sendo assim, especialmente as análises físico-químicas têm como principal objetivo garantir a qualidade e segurança, bem como assegurar a autenticidade do produto, com vistas a evitar adulterações por meio da adição de compostos não permitidos como xaropes e água e também por meio da adulteração da origem botânica e/ou geográfica do mel (CAMINA; PELLERANO; MARCHEVSKY, 2012).

#### **4 Vida útil do mel**

A determinação da vida útil de um alimento é extremamente importante pois visa garantir ao consumidor o acesso a um produto de qualidade e livre de contaminações. A vida útil de um produto alimentício pode ser definida como o tempo, em certa condição de estocagem, que este leva para se tornar impróprio ou não seguro para o consumo. Alterações físicas, químicas e

sensoriais, presença de contaminantes da embalagem e de microrganismos patógenos e/ou deteriorantes são alguns dos indicadores da perda da qualidade e segurança de um alimento e, portanto, do término da vida útil do mesmo (GIMÉNEZ; ARES; ARES, 2012; SOUSA GALLAGHER; MAHAJAN; YAN, 2011).

Diversos fatores intrínsecos (como aroma, textura, composição química, presença de microrganismos) e extrínsecos (como tipo de embalagem, exposição à luz e oxigênio, temperatura e umidade durante a estocagem) são levados em consideração na determinação da vida útil de um alimento (MAN, 2004; SINGH; CADWALLADER, 2004). Os estudos de vida útil normalmente baseiam-se na avaliação das características físico-químicas, sensoriais, microbiológicas e nutricionais ao longo do período de validade esperado para determinado produto. Nesses casos, submete-se o alimento à estocagem em condições semelhantes às que serão encontradas durante a estocagem, comercialização e tempo de uso. No entanto, quando a reprodução das condições reais se torna difícil, a utilização de condições mais extremas a que o alimento poderá ser submetido é sugerido, a fim de garantir dados com uma margem de segurança mais ampla. Para alimentos com prazo estimado de validade longo, a estimativa da vida útil pode ser acessada por meio de métodos rápidos baseados em procedimentos acelerados, por exemplo. Nesse caso, é importante que exista uma relação entre o comportamento do produto estocado em condições normais e em condições aceleradas (MAN, 2004; SOUSA GALLAGHER; MAHAJAN; YAN, 2011).

Apesar da importância da definição da vida útil dos alimentos, não são definidas por organizações regulamentadoras as condições de estocagem recomendadas ou o tempo de vida útil dos produtos da colmeia (própolis, pólen, cera e mel), com exceção da geleia real.

Durante todas as etapas envolvidas na comercialização do mel, desde a sua produção na colmeia até o consumo, este produto pode ser exposto a diversas fontes de contaminação e condições inapropriadas. Dentre estes, a temperatura e o tempo de armazenamento podem ser destacados como importantes fatores, com impacto direto na composição do mel, podendo levar ao comprometimento de sua qualidade, tanto nutritiva quanto sensorial (MOREIRA et al., 2007; SEBRAE, 2009).

Em países de clima tropical e mediterrâneo, incluindo o Brasil, temperaturas anuais acima de 20 °C, podendo chegar a 40-45 °C, são registradas. Desta forma, a produção e/ou comercialização de méis em locais com temperaturas altas requerem uma maior atenção quanto a possíveis alterações na sua composição, especialmente quando estes produtos são estocados por longos períodos antes de serem consumidos (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012; MOREIRA et al., 2007, 2010). Apesar da importância do tema, foi constatada a escassez de estudos,

principalmente nos últimos 10 anos, relacionados a influência das condições de estocagem, como tempo e temperatura, na composição de méis, especialmente de méis de melato.

Nesse contexto, conhecer as alterações que ocorrem no mel ao longo da estocagem, incluindo aquelas que ocorrem em detrimento do tempo e temperatura de armazenamento, podem ser úteis e capazes de auxiliar no estabelecimento de parâmetros e condições que garantam o frescor e qualidade nutricional e sensorial deste produto. Isso se torna de suma importância quando se trata do mel de melato de bracatinga. Pelo fato de a produção desse mel ser bianual, a comercialização e consumo do mel de melato de bracatinga poderá ocorrer por períodos inclusive superiores a dois anos e ocorrer grandes variações de temperatura durante esse período.

## **5 Principais meios de degradação de compostos do mel**

A qualidade do mel deve ser garantida ao longo de todo o seu armazenamento, sendo, portanto, importante conhecer a estabilidade de diferentes classes de compostos a fim de evitar ou retardar alterações indesejáveis no produto (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012). A degradação e/ou transformação de compostos e alterações físico-químicas no mel são normalmente atribuídos à ação microbiana e reações de escurecimento não enzimático, as quais são mais discutidas e conhecidas. Ainda, processos de oxidação, volatilização e esterificação por exemplo, também ocorrem em paralelo às degradações destacadas. Independentemente da via de degradação ou transformação, diversos fatores como temperatura, tempo, umidade, oxigênio, acidez, açúcares, aminoácidos, entre outros, contribuem na inibição ou promoção dessas reações (BATH; SINGH, 2000; CAVIA et al., 2007; IGLESIAS et al., 2006; MOREIRA et al., 2010).

### **5.1 Degradação microbiologia e biológica**

O mel pode ser contaminado por bactérias, leveduras e bolores. Considera-se como primeira fonte de contaminação microbiana do mel o pólen, néctar, melato, trato digestivo das abelhas e de insetos sugadores, ar, entre outros. Quanto às fontes secundárias de contaminação do mel, estas são relacionadas a processos de higiene, processamento e estocagem do mel, onde pode-se destacar a contaminação por via humana, equipamentos, local de produção, local da colheita. No mel, o baixo pH, alta concentração de açúcares, baixa atividade de água ( $A_w$ ), atividade enzimática e a presença natural de compostos antimicrobianos (como peróxido de

hidrogênio) são fatores que dificultam a ocorrência de deterioração microbiana (GRABOWSKI; KLEIN, 2015; OLAITAN; ADELEKE; OLA, 2007; RÓŽAŇSKA; OSEK, 2012). No entanto, quando as boas práticas de produção não são devidamente respeitadas, o mel pode sofrer fermentação, levando à degradação de açúcares e formação de álcoois, os quais são convertidos em ácidos (especialmente ácido acético), elevando a acidez do mel (BATH; SINGH, 2000; CAVIA et al., 2007; CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006). Ainda, a cristalização do mel pode contribuir no aumento da  $A_w$  e este favorecer o desenvolvimento de microrganismos que podem levar a fermentação não desejada deste produto (BATH; SINGH, 2000; CAVIA et al., 2007; NAYIK; DAR; NANDA, 2015).

## 5.2 Escurecimento não enzimático

A qualidade do mel também pode ser afetada pela ocorrência de reações de escurecimento não enzimático, especialmente reações de Maillard, desidratação direta de açúcares em meio ácido e/ou de caramelização, as quais ocorrem mais pronunciadamente durante o aquecimento do produto ou estocagem por longos períodos (IGLESIAS et al., 2006; MOREIRA et al., 2010; SORIA; MARTÍNEZ-CASTRO; SANZ, 2008). O aquecimento do mel é uma prática realizada visando muitas vezes prevenir especialmente a cristalização do mel e o desenvolvimento de microrganismos, aumentando conseqüentemente a vida útil do mesmo (BATH; SINGH, 2000; CHUA et al., 2014; TURHAN et al., 2008). As reações de escurecimento não enzimático podem levar ao escurecimento do mel devido à formação de compostos de cor (melanoidinas) (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; IGLESIAS et al., 2006), além da provável formação de produtos como furfural e 5-metilfurfural, considerados produtos de degradação e indicativos de perda de frescor do mel (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; KARABAGIAS et al., 2014a; SORIA; MARTÍNEZ-CASTRO; SANZ, 2008).

### *Reação de Maillard*

Na reação de Maillard, um grupo carbonila ( $C=O$ ) oriundo de açúcares redutores, especialmente da glicose, reagem de forma reversível com um grupo amino livre ( $NH_2$ ) de aminoácidos, peptídeos ou proteínas, promovendo a formação de diversos produtos que irão afetar a cor, aroma e sabor do mel de forma lenta e natural durante o armazenamento do mesmo, ou acelerada, em temperaturas altas (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; IGLESIAS et al., 2006). As características do mel como tipo de açúcar e aminoácido (BATH;

SINGH, 2000; IGLESIAS et al., 2006; SANZ et al., 2003), além das condições do meio como pH, acidez, teor de umidade, temperatura e duração do aquecimento, tempo de estocagem, são fatores que afetam a intensidade das reações de Maillard (BATH; SINGH, 2000; FALLICO; ARENA; ZAPPALA, 2008).

A partir da interação entre grupo carbonila e amino, ocorre a formação de uma base de Schiff que pode sofrer uma ciclização e formar assim uma glicosamina (também conhecida como *N*-glicosídeo) ou sofrer uma reação chamada de rearranjo de Amadori e originar compostos de Amadori, que no caso da glicose seria um derivado do 1-amino-1-desoxi-D-frutose (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Os compostos de Amadori são considerados os primeiros intermediários de subseqüentes reações envolvidas com o escurecimento de alimentos incluindo a formação das melanoidinas (IGLESIAS et al., 2006). Estes compostos passam então por rearranjos e eliminações, normalmente estimulados em pH 4 a 7, gerando a formação de novos intermediários osonas, em especial do 3-desoxiosona. As osonas podem se tornar cíclicas e sofrer desidratações principalmente em temperaturas altas e especialmente em  $\text{pH} \leq 5$ , formando uma complexa mistura de intermediários e produtos (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Um dos compostos que podem ser formados são derivados furanos, como o 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) quando se origina de uma hexose (como glicose e frutose), ou o furfural (furaldeído) quando proveniente de uma pentose (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; MOREIRA et al., 2010); enquanto que em condições menos ácidas ( $\text{pH} > 5$ ), os compostos cíclicos reativos como 5-HMF, furfural e outros, podem sofrer polimerização com substâncias que contenham grupos amina, originando com isso compostos normalmente insolúveis e nitrogenados, de cor escura chamados de melanoidinas (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

As osonas também podem reagir com aminoácidos e formar inicialmente uma base de Schiff, seguido de processos de descarboxilação, desidratação e eliminação até a formação de um aldeído, conhecido como degradação de Strecker. Estes aldeídos não são compostos de cor mas costumam inferir no aroma ao longo do escurecimento não enzimático, como o fenilacetaldeído, metilpropanal, 2-metilbutanol (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Perdas nutricionais ocorrem com as reações de Maillard, uma vez que aminoácidos como lisina e arginina são degradados neste processo (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Além do 5-HMF e furfural, outros compostos de degradação de açúcares formados quando submetidos ao aquecimento e em presença de aminoácidos são o isomaltol, maltol

(FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010), 2-acetilfurano, 2,5-dimetil-4-hidroxi-3[2H]-furanona (ou furaneol) (WANG et al., 2009).

#### *Desidratação de açúcares em meio ácido*

Na desidratação direta de açúcares em meio ácido e temperaturas altas, grupos amino de aminoácidos ou proteínas não estão envolvidos. Neste processo, pentoses e hexoses sofrem transformações que envolvem basicamente processos de enolização e desidratação, gerando a formação de furanos como 5-HMF (a partir de hexoses) e furfural (a partir de pentoses) (DANON; MARCOTULLIO; JONG, 2013; KOWALSKI et al., 2013).

Na formação do furfural, três vias são destacadas: via enolização, onde a partir de pentoses acíclicas ocorre a formação do intermediário 1,2-enediol (por enolização) e subsequente desidratação a furfural; via  $\beta$ -eliminação, onde pentoses acíclicas sofrem a eliminação de 3 moléculas de água até a formação do furfural; e via intermediários cíclicos, onde a forma piranosídica das pentoses sofre desidratação levando a formação de um intermediário furanosídico o qual é subsequentemente desidratado à furfural (DANON; MARCOTULLIO; JONG, 2013).

Na síntese de 5-HMF, catalisado por meio ácido, principalmente a glicose e frutose são os açúcares envolvidos. Quando a frutose é o açúcar envolvido, esta molécula sofre seguidas desidratações e enolização até a formação do 5-HMF. Quando a glicose está presente no meio, este açúcar sofre isomerização seguido de enolização com a formação de intermediários como o 1,2-enediol. Estes produtos sofrem, então, desidratações até a formação do 5-HMF (DE SOUZA et al., 2012; KOWALSKI et al., 2013; LEBLANC et al., 2009).

Assim, o 5-HMF pode ser formado pela reação de Maillard e desidratação de açúcares em meio ácido, onde o composto 3-desoxiosona pode ser destacado como composto chave na formação do 5-HMF por estas duas vias. Ainda, o 5-HMF também pode ser formado por uma via alternativa por meio da formação do cátion frutofuranosil que em meio ácido, baixa umidade e calor, o qual é rapidamente convertido a 5-HMF (CAPUANO; FOGLIANO, 2011).

#### *Caramelização*

A caramelização ocorre quando açúcares, em especial sacarose e açúcares redutores, são aquecidos em ausência de compostos nitrogenados, havendo a formação do caramelo. As reações envolvidas são facilitadas na presença de pequenas quantidades de ácidos ou bases e

sais. Com o aquecimento, ocorre a desidratação da molécula de açúcar e formação de ligações duplas ou de anéis anidro. Neste processo, há a formação de intermediários osonas, como o 3-desoxiosonas, bem como de furanos e outros intermediários cíclicos insaturados, como derivados de pirazinas e imidazóis (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; MOREIRA et al., 2010). Esses compostos cíclicos sofrem reações de polimerização formando uma mistura complexa que resulta no produto final conhecido como caramelo. Os pigmentos formados são normalmente moléculas poliméricas de alta massa molar e com estruturas complexas. Os produtos formados na caramelização, além de contribuírem na cor do produto, também contribuem no aroma e sabor (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Estas reações podem ocorrer em paralelo com as reações de Maillard, inclusive em méis, como proposto por Moreira et al. (2010).

### 5.3 Outros compostos suscetíveis à degradação

Hidrocarbonetos são considerados compostos pouco reativos, porém ao longo do armazenamento do mel estes compostos podem sofrer redução de suas concentrações. Este comportamento pode estar associado à formação de hidrocarbonetos com maior massa molar, bem como com reações de oxidação e formação de novos compostos como álcoois, facilmente volatilizáveis. O aumento da concentração de álcoois, como o octadecanol e benzenometanol, ao longo do armazenamento do mel também pode ocorrer por meio da degradação via oxidação lipídica ou por processos de redução de aldeídos catalizados por redutases provindas de abelhas ou de microrganismos contaminantes (MOREIRA et al., 2010).

A formação de aldeídos e cetonas, como o hexanal,  $\beta$ -damascenona e nonanal, no mel, ao longo do seu armazenamento, pode estar relacionado a reações de oxidação de ácidos graxos (KAŠKONIENĖ; VENSKUTONIS; ČEKŠTERYTĖ, 2008). Ainda, reações de oxidação também podem estar envolvidas, especialmente no caso de aldeídos, como na formação do ácido hexadecanoico, formado por meio de oxidação aldeídica. A formação de ésteres como o 1,2-etanodiol diacetato e 2-hexil acetato podem estar relacionados a reações de esterificação que podem ocorrer ao longo do armazenamento do mel, incluindo por ação microbiana. Adicionalmente, a perda ou diminuição da concentração de muitos compostos como aldeídos, álcoois, ésteres e ácidos, como o 4-metil-3-heptanol, hexadecanal, [Z]-3-hexenil hexanoato e ácido propiônico, respectivamente, podem estar ligados a processos de volatilização (MOREIRA et al., 2010).

## 6 Principais classes de compostos encontrados em méis de melato e sua estabilidade

### 6.1 Açúcares

Os carboidratos são os compostos majoritários encontrados em méis. Os açúcares predominantes tanto em méis de melato como florais são os monossacarídeos redutores frutose e glicose, apresentando cada açúcar normalmente valores que variam de 25 a 40% (peso úmido) da constituição do mel. Além destes açúcares, pode-se destacar outros carboidratos como sacarose, trealose, melezitose, maltose, isomaltose e turanose como os mais investigados e identificados em méis (AL et al., 2009; ASTWOOD; LEE; MANLEY-HARRIS, 1998; CAN et al., 2015; ESCUREDO et al., 2013; MATEO; BOSCH-REIG, 1997).

Na Tabela 1.2 são apresentados estudos relacionados a determinação de açúcares em méis de melato de diversas origens nos últimos anos.

Tabela 1.2 – Carboidratos pesquisados em méis de melato de diferentes origens (continua)

| <b>Origem geográfica / botânica</b>   | <b>Carboidratos investigados</b>   | <b>Carboidratos encontrados</b>     | <b>Técnica analítica</b> | <b>Referência bibliográfica</b> |
|---|--|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Croácia / <i>Abies alba</i> , <i>Quercus ilex</i> , <i>Quercus frainetto</i> , <i>Acer monspessulanum</i> e silvestre | Trealose, glicose, frutose, melibiose, sacarose, isomaltose, melezitose, turanose, maltose, sorbitol, arabinose, panose, maltotriose, rafinose           | Todos                               | HPAEC-PAD                | (VASIĆ et al., 2020)            |
| Espanha / <i>Quercus</i> sp.  | Frutose, glicose, sacarose, melezitose, trealose, maltose, turanose  | Todos, com exceção da trealose      | HPAEC-PAD                | (RODRÍGUEZ-FLORES et al., 2019) |
| Brasil / <i>Mimosa scabrella</i> Bentham  | Frutose, glicose, sacarose, maltose, rafinose, melezitose, celobiose, raminose, xilose   | Frutose, glicose, sacarose, maltose | CE-DAD                   | (BERGAMO et al., 2019a)         |
| Espanha / ni  | Frutose, glicose, sacarose, maltose, trealose, gentiobiose, isomaltose, rafinose, erlose, melezitose, maltotriose, panose, isomaltotriose, maltotetraose | Todos                               | GC-FID                   | (PASCUAL-MATÉ et al., 2018)     |
| Grécia / <i>Pinus</i> sp. e abeto   | Frutose, glicose, sacarose, maltose, rafinose, turanose  | Todos                               | NMR / HPLC-RID           | (KARABAGIAS et al., 2018)       |

Tabela 1.2 – Carboidratos pesquisados em méis de melato de diferentes origens (continuação)

| <b>Origem geográfica / botânica</b>                                      | <b>Carboidratos investigados</b>   | <b>Carboidratos encontrados</b>   | <b>Técnica analítica</b> | <b>Referência bibliográfica</b>  |
|--|--|---|--------------------------|----------------------------------|
| Índia / <i>Pinus</i> sp.   | Frutose, glicose, maltose, sacarose  | Todos   | HPLC-RID                 | (NAYIK et al., 2018)             |
| Turquia / <i>Pinus</i> L. e <i>Quercus robur</i> L.                      | Frutose, glicose, sacarose, maltose, trealose, melibiose, melezitose, ribose, arabinose, galactose | Todos, com exceção da sacarose, melibiose, ribose, arabinose, galactose | HPLC-RID                 | (CAN et al., 2015)               |
| Malásia / acácia e de florestas (seringueira, óleo de palma e silvestre) | Frutose, glicose, sacarose, maltose  | Todos   | HPLC-RID                 | (CHUA; ADNAN, 2014)              |
| Espanha e Romênia / ni   | Frutose, glicose, sacarose, maltose, melezitose  | Todos   | HPAEC-PAD                | (ESCUREDO et al., 2014)          |
| Espanha / ni   | Frutose, glicose, sacarose, maltose, trealose, melezitose  | Todos   | IC-PAD                   | (ESCUREDO et al., 2013)          |
| Alemanha / ni  | Ramnose, glicose, arabinose, frutose   | Todos, com exceção da ramnose   | Espectrometria por NMR   | (OHMENHAEUSER et al., 2013)      |
| Polônia / <i>Abies alba</i> L.   | Sacarose, glicose, frutose, turanose, maltose, trealose, isomaltose, melezitose                    | Todos   | ni                       | (RYBAK-CHMIELEWSKA et al., 2013) |
| Romênia / ni   | Frutose, glicose, sacarose, maltose, melezitose, trealose  | Todos   | HPLC-PAD                 | (DOBRE et al., 2012)             |
| Turquia / <i>Pinus</i> sp.   | Frutose, glicose, sacarose   | Todos, com exceção da sacarose  | CE-DAD                   | (TEZCAN et al., 2011)            |
| Espanha / ni   | Glicose, frutose, sacarose, maltose, trealose, turanose, isomaltose, melezitose                    | Todos   | HPLC-DRI                 | (MANZANARES et al., 2011)        |
| Romênia / ni   | Frutose, glicose, sacarose, maltose, trealose, melezitose  | Todos   | HPLC-RID                 | (AL et al., 2009)                |
| Turquia / ni   | Glicose, frutose, maltose, rafinose, sacarose  | Todos   | HPLC-RID                 | (SENYUVA et al., 2009)           |
| Transilvânia / ni  | Glicose, frutose, sacarose, turanose, maltose, trealose, erlose, melezitose, rafinose              | Todos   | HPLC-RID                 | (VICTORITA et al., 2008)         |
| ni / ni  | Frutose, glicose, sacarose, turanose, maltose, trealose, isomaltose, melezitose+erlose             | Todos   | HPLC-RID                 | (RYBAK-CHMIELEWSKA, 2007)        |

Tabela 1.2 – Carboidratos pesquisados em méis de melato de diferentes origens (conclusão)

| <b>Origem geográfica / botânica</b> | <b>Carboidratos investigados</b>  | <b>Carboidratos encontrados</b> | <b>Técnica analítica</b> | <b>Referência bibliográfica</b>     |
|-------------------------------------|---|---------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|
| Marrocos / ni                       | Frutose, glicose, sacarose, maltulose, trealose, maltose, kojibiose, gentiobiose, isomaltose, rafinose, melezitose, turanose                            | Todos                           | GC-MS                    | (DIEZ; ANDRES; TERRAB, 2004)        |
| Nova Zelândia / ni                  | Sacarose, trealose, celobiose, turanose, nigerose, maltose, gentiobiose, palatinose, isomaltose, erlose, melezitose, maltotriose, panose, maltotetraose | Todos                           | HPLC-RID e GC-FID        | (ASTWOOD; LEE; MANLEY-HARRIS, 1998) |
| Espanha / <i>Quercus</i> spp        | Frutose, glicose, sacarose, maltose+turanose+nigerose, maltulose, kojibiose, isomaltose, rafinose, erlose, melezitose                                   | Todos                           | GC-FID                   | (MATEO; BOSCH-REIG, 1997)           |

Legenda: ni – não informado; diferencial de índice de refração (DRI, do inglês, *differential refractive index*); detector por ionização de chama (FID, do inglês, *flame-ionization detector*); detector de índice de refração (RID, do inglês, *refractive index detector*); detecção amperométrica pulsada (PAD, do inglês, *pulsed amperometric detection*); cromatografia iônica (IC, do inglês, *ion-chromatography*); cromatografia de alta eficiência por troca iônica (HPAEC, do inglês, *high-performance anion-exchange chromatography*); cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês, *high performance liquid chromatography*); cromatografia a gás (GC, do inglês, *gas chromatography*); eletroforese capilar (CE, do inglês, *capillary electrophoresis*); detector de arranjo de diodos (DAD, do inglês, *diode array detector*); ressonância magnética nuclear (NMR, do inglês, *nuclear magnetic resonance*); espectrometria de massas (MS, do inglês, *mass spectrometry*).

**Fonte:** Próprio autor (2020).

Conforme apresentado na Tabela 1.2, diferentes açúcares já foram investigados e identificados em méis de melato, especialmente utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês, *high performance liquid chromatography*) acoplada ao detector de índice de refração (RID, do inglês, *refractive index detector*). Além dos açúcares majoritários (frutose e glicose), já foram identificados em méis de melato outros carboidratos, especialmente di e trissacarídeos, comumente encontrados em concentrações individuais inferiores a 5% (peso úmido), tais como a maltose, sacarose, isomaltose, turanose, maltulose, kojibiose, trealose, celobiose, gentiobiose, palatinose, melezitose, rafinose, erlose, maltotriose.

Grande variabilidade no perfil e principalmente na concentração dos carboidratos em méis de melato é observada. No entanto, os menores teores de glicose e frutose são observados

em méis de melato em comparação aos méis florais, o que resulta em menores concentrações de açúcares redutores (frutose + glicose) nesta classe de mel (DOBRE et al., 2012; ESCUREDO et al., 2014; NAYIK et al., 2018; TEZCAN et al., 2011), fato já previsto em diversas legislações (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002). A inexistência ou baixa cristalização dos méis de melato também pode ser destacada, uma vez que ocorre devido à menor concentração de glicose nessa classe de mel quando comparados aos méis florais (DOBRE et al., 2012). Adicionalmente, menores teores de sacarose são constantemente verificados em méis de melato, a exemplo do mel de melato de bracinga, em relação a méis florais (BERGAMO et al., 2019a; MANZANARES et al., 2011; NAYIK et al., 2018; RYBAK-CHMIELEWSKA et al., 2013; VICTORITA et al., 2008). Em contrapartida, altas concentrações de determinados oligossacarídeos, como maltose, trealose, turanose e erlose, são relatados em méis de melato. Por outro lado, a sua ocorrência e concentração parecem depender fortemente da origem botânica do mel de melato (CAN et al., 2015; MANZANARES et al., 2011; RYBAK-CHMIELEWSKA, 2007).

A melezitose é um trissacarídeo também produzido a partir da ação de enzimas transferases durante o processo de digestão da seiva de plantas por insetos sugadores, sendo, portanto, considerado característico de melatos (ASTWOOD; LEE; MANLEY-HARRIS, 1998; COTTE et al., 2004; SANZ; SANZ; MARTÍNEZ-CASTRO, 2004). No entanto, a ausência desse açúcar em méis de melato já foi observada, sugerindo uma possível influência da origem botânica (DIEZ; ANDRES; TERRAB, 2004; ESCUREDO et al., 2013, 2014; MANZANARES et al., 2011; MATEO; BOSCH-REIG, 1997). Ainda, a presença desse açúcar em méis florais também foi reportada, fato que é fortemente vinculado ao uso de melato pelas abelhas (DA COSTA LEITE et al., 2000; MATEO; BOSCH-REIG, 1997).

#### 6.1.1 Estudos sobre a estabilidade de açúcares e produtos de degradação em méis

A influência de fatores como temperatura e tempo de estocagem do mel sobre os açúcares e produtos de degradação foram investigados em alguns estudos.

Alterações na concentração de açúcares foram avaliadas em um mel floral e em um mel de melato, ambos de origem botânica e geográfica desconhecida, à temperatura ambiente (não especificada - com luz e sem luz), 4 e 35 °C, durante nove meses de estocagem. Após esse período de estocagem, foi observado um decréscimo na concentração de monossacarídeos (glicose e frutose), variando de 1,6 a 5,3% para o mel de melato, e de 1,6 a 6,4% para o mel floral. Em contrapartida, um aumento na concentração de di e trissacarídeos (sacarose, turanose,

maltose, isomaltose, melibiose, melezitose e rafinose) foi verificado, com uma oscilação entre 15,1 e 57,9% para o mel de melato, e 18,0 a 73,2% para o mel floral. Os pesquisadores observaram que as maiores mudanças na concentração de açúcares ocorreram em temperatura mais alta (35 °C), sugerindo que a alta concentração de açúcares combinado com a acidez do mel podem ter promovido reações entre os monossacarídeos, além da degradação e formação de 5-HMF. Além disso, a presença de enzimas transglicosilases no mel podem ter promovido o aumento de oligossacarídeos ao longo do tempo de estocagem (HISIL; BAGDATLIOGLU, 1994).

O perfil e concentração de açúcares também foi avaliado em méis florais e de melato poloneses (todos de origem botânica desconhecida) tratados termicamente para inativação enzimática e não tratados termicamente, estocados a 4 e 20 °C ao longo de seis meses. Foi observado que o tratamento térmico do mel não afetou a concentração dos açúcares. Os fatores que afetaram os teores de açúcares foram as condições de armazenamento, ou seja, os méis estocados a 4 °C demonstraram maior estabilidade frente às alterações quando comparados aos méis estocados a 20 °C. No entanto, as variações na concentração dos açúcares foram insignificantes (até 0,8%) e justificadas como resultado da exatidão do método e de processos de escurecimento não enzimático, a exemplo da reação de Maillard, com possível alteração da cor e sabor do mel (RYBAK-CHMIELEWSKA, 2007).

Monossacarídeos, dissacarídeos e trissacarídeos também foram investigados em mel cítrico da Espanha estocado por 12 meses à 10, 20 e 40 °C. A concentração de monossacarídeos decresceu durante a estocagem em temperaturas de 10, 20 e 40 °C para os valores de 13,5, 25 e 25,2%, respectivamente. Com relação aos dissacarídeos, houve uma tendência de aumento na concentração dos açúcares pertencentes a este grupo, especialmente a 40 °C. A maltose apresentou a maior alteração, de 0,25 g 100 g<sup>-1</sup> (valor inicial) para 2,32 g 100 g<sup>-1</sup> a 40 °C. As mudanças em relação aos trissacarídeos foram dependentes de cada açúcar, sem uma tendência clara. No entanto, os autores atribuíram o decréscimo da concentração de monossacarídeos à formação de compostos de degradação e de oligossacarídeos durante o tempo de armazenamento e suas condições, sendo que a formação de dissacarídeos foi atribuída, em especial, à atividade enzimática de glicosidases presentes no mel e à transformação química de monossacarídeos em dissacarídeos, ocorrido em meios cujo pH é baixo e associado à alta concentração de monossacarídeos. Os teores de 5-HMF também aumentaram com a estocagem em todas as temperaturas aplicadas no estudo, especialmente a 40 °C, passando da concentração inicial de 10,2 para 284,6 mg kg<sup>-1</sup>, revelando o composto 5-HMF como um indicador de

aquecimento adequado para méis ou como um sinalizador de que o produto passou por estocagem a altas temperaturas (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008).

Em outro estudo realizado por Sanz et al. (2003), foi avaliado o efeito do armazenamento de méis espanhóis (três méis florais e um mel de melato, todos de origem botânica desconhecida) em temperaturas de 25 e 35 °C durante o período de 12 meses. Os resultados demonstraram que o teor de 5-HMF variou minimamente durante o período do estudo em temperatura de 25 °C, entretanto aumentou notavelmente a 35 °C, confirmando o uso dessa substância como um indicador satisfatório de aquecimento de méis. No mesmo estudo foi observada a formação de compostos 2-furoilmetil-aminoácidos, formados por meio de hidrólise ácida de compostos de Amadori, com a constatação de um aumento significativo em ambas as temperaturas ao longo do período de estocagem. A lisina, além da prolina, ácido  $\gamma$ -aminobutírico e arginina, foram citados neste mesmo estudo como os aminoácidos que estão diretamente envolvidos na formação desses compostos de degradação, sendo, portanto, outra classe de compostos sugeridos como marcadores adequados para o tempo de estocagem de méis.

## 6.2 Aminoácidos

Em méis, estima-se que entorno de 40 a 65% do total de nitrogênio pertença a proteínas, sendo o restante derivado de aminoácidos livres (GIROLAMO; D'AMATO; RIGHETTI, 2012). Os aminoácidos presentes em méis podem ser oriundos da fonte sacarínica, de insetos, de microrganismos e da abelha (BOGDANOV; RUOFF; PERSANO-ODDO, 2004; CARRATÙ et al., 2011; NISBET et al., 2009) e são normalmente responsáveis por aproximadamente 1% (peso úmido) dos constituintes do mel (KAROUI et al., 2007). Na Tabela 1.3 são apresentados estudos científicos publicados nos últimos anos e relacionados à determinação de aminoácidos livres em méis de melato de diferentes origens.

Tabela 1.3 – Estudos que relatam a presença de aminoácidos livres em méis de melato de diferentes origens (continua)

| <b>Origem geográfica / botânica</b> | <b>Aminoácidos investigados</b> | <b>Aminoácidos encontrados</b> | <b>Técnica analítica</b> | <b>Referência bibliográfica</b> |
|-------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Grécia / <i>Pinus</i> sp. e abeto   | Phe, Pro                        | Todos                          | NMR                      | (KARABAGIAS et al., 2018)       |

Tabela 1.3 – Estudos que relatam a presença de aminoácidos livres em méis de melato de diferentes origens (continuação)

| <b>Origem geográfica / botânica</b>                                      | <b>Aminoácidos investigados</b>   | <b>Aminoácidos encontrados</b>                      | <b>Técnica analítica</b>             | <b>Referência bibliográfica</b>             |
|--|---|---|--------------------------------------|---|
| Eslováquia e Polônia / silvestre   | Ala, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, Gpr, Hyp, Ile, Leu, Lys, Met, Orn, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Val  | Todos   | LC-MS/MS                             | (KOWALSKI et al., 2017)                     |
| Brasil / <i>Mimosa scabrella</i> Bentham                                 | Ala, Sar, Gly, $\alpha$ -Aba, Val, b-Aib, Leu, alle, Ile, Thr, Ser, Pro, Asn, Tpr, Asp, Met, Hyp, Glu, Phe, $\alpha$ -Aaa, $\alpha$ -Apa, Gln, Orn, Gpr, Lys, His, Hly, Tyr, Php, Trp, Cth, Cys | Ser, Pro, Asn, Asp, Glu                             | GC-MS                                | (AZEVEDO et al., 2017a)                     |
| Turquia / ni   | Gly, Ala, Ser, Pro, Val, Thr, Leu, Hyp, Ile, Asn, Asp, Lys, Gln, Glu, Met, His, Phe, Arg, Tyr, Trp, Cys   | Todos, com exceção da Gly, Ser, Asp, His e Cys      | UPLC-ESI-MS/MS                       | (KIVRAK, 2015)                              |
| Malásia / acácia e de florestas (seringueira, óleo de palma e silvestre) | Asp, Ser, Glu, Gly, His, Arg, Thr, Ala, Pro, Cys, Tyr, Val, Met, Lys, Iso, Leu, Phe   | Todos, com exceção da Asp, Ser, Gly, Arg, Val e Phe | HPLC-DAD                             | (CHUA; ADNAN, 2014)                         |
| Turquia / <i>Pinus</i> sp.   | Asp, Ser, Glu, Gly, His, Arg, Thr, Ala, Pro, Cys, Tyr, Val, Met, Lys, Phe, Trp, Hyp, Leu/Ile, Gln   | Todos, com exceção do Trp                           | LC-APCI-MS                           | (SILICI; KARAMAN, 2014)                     |
| Polônia / ni   | Asp, Thr, Ser, Asn, Glu, Gln, $\alpha$ -Aaa, Pro, Gly, Ala, $\alpha$ -Aba, Val, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe, $\beta$ -Ala, $\beta$ -Aba, $\gamma$ -Aba, Ea, Orn, Lys, His, Arg                      | Todos   | Analizador automático de aminoácidos | (JANISZEWSKA; ANIOŁOWSKA; NOWAKOWSKI, 2012) |
| Itália / ni  | Arg, Asn, Gln, Ser, Asp, Glu, Thr, Gly Ala, Pro, $\gamma$ -Gaba, Met, Val, Phe, Iso, Leu, Trp, His, Orn, Lys, Tyr   | Todos, com exceção da Met, Trp e His                | HPLC-FLD                             | (CARRATÙ et al., 2011)                      |
| Turquia / ni   | Tyr, Val, Leu/Isso, Phe, Trp, Ala, Asp, Cys, Asn, Arg, Glu, Lys, Thr, Cys, Ser, Hyp, Gln, Met, Pro, His, Gly  | ni  | LC-APCI-MS                           | (SENYUVA et al., 2009)                      |

Tabela 1.3 – Estudos que relatam a presença de aminoácidos livres em méis de melato de diferentes origens (conclusão)

| <b>Origem geográfica / botânica</b> | <b>Aminoácidos investigados</b>  | <b>Aminoácidos encontrados</b>                 | <b>Técnica analítica</b> | <b>Referência bibliográfica</b> |
|-------------------------------------|--|--|--------------------------|---------------------------------|
| Espanha / ni                        | Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, His, Gly, Thr, Arg, $\beta$ -Ala, $\alpha$ -Ala, $\gamma$ -Gaba, Tyr, Val, Trp, Phe, Ile, Leu, Orn, Lys                           | Todos, com exceção da His                      | HPLC-FLD e colorimétrico | (PÉREZ et al., 2007)            |
| Espanha / <i>Ilex</i> e carvalho    | Asp, Glu, $\alpha$ -Aaa, Asn, Ser, Hser, Ala, Phe, Gly, Tau, Met, Ileu, Gln, Thr, $\gamma$ -Gaba, Val, Leu, His, Arg, Tyr, Trp, Orn, Lys                   | Todos  | HPLC-FLD e colorimétrico | (GONZÁLEZ-PARAMÁS et al., 2006) |
| Espanha / ni                        | Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, His, Gly, Thr, Arg, $\alpha$ -Ala, $\beta$ -Ala, $\gamma$ -Gaba, Tyr, Met, Val, Trp, Phe, Ile, Leu, Orn, Lys, Pro                 | Todos  | HPLC-FLD e colorimétrico | (IGLESIAS et al., 2006)         |
| Espanha / ni                        | Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, His, Gly, Thr, Arg, $\alpha$ -Ala, $\beta$ -Ala, $\gamma$ -Gaba, Tyr, $\alpha$ -Aba, Met, Val, Trp, Phe, Isso, Leu, Orn, Lys, Pro | Todos, com exceção da Orn, $\alpha$ -Aba e Met | HPLC-FLD e colorimétrico | (IGLESIAS et al., 2004)         |

Legenda: Pro – prolina; Asp – ácido aspártico; Glu – ácido glutâmico; Asn – asparagina; Ser – serina; Gln – glutamina; His – histidina; Gly – glicina; Thr – treonina; Arg – arginina; Ala – alanina;  $\beta$ -Ala –  $\beta$ -alanina;  $\alpha$ -Ala –  $\alpha$ -alanina;  $\gamma$ -Gaba – ácido  $\gamma$ -aminobutírico; Tyr – tirosina; Val – valina; Trp – triptofano; Tpr – tioprolina; Phe – fenilalanina; Ile – isoleucina; Leu – leucina; Orn – ornitina; Lys – lisina; Cys – cisteína; Met – metionina; Hyp – hidroxiprolina; Leu/Ileu – leucina/isoleucina;  $\alpha$ -Aaa – ácido  $\alpha$ -aminoadípico;  $\alpha$ -Aba – ácido  $\alpha$ -aminobutírico;  $\beta$ -Aba – ácido  $\beta$ -aminobutírico; EA – etilamina; Hser - homoserina; Tau – taurina;  $\alpha$ -Apa – ácido  $\alpha$ -aminopimélico; Gpr – glicil-prolina; Hly – hidroxilisina; Php – prolina-hidroxiprolina; Cth – cistationina; Sar – sarcosina;  $\beta$ -Aib – ácido  $\beta$ -aminoisobutírico; aIle – alo-isoleucina; cromatografia líquida (LC, do inglês, *liquid chromatography*); ionização química à pressão atmosférica (APCI, do inglês, *atmospheric pressure chemical ionization*); espectrometria de massas (MS, do inglês, *mass spectrometry*); cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC, do inglês, *ultra performance liquid chromatography*); Ionização por eletronebulização (ESI, do inglês, *electrospray ionization*); espectrometria de massas em tandem (MS/MS, do inglês, *mass spectrometry-mass spectrometry*); cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês, *high performance liquid chromatography*); detector de arranjo de diodos (DAD, do inglês, *diode array detector*); detector de fluorescência (FLD, do inglês, *fluorescence detector*); cromatografia a gás (GC, do inglês, *gas chromatography*); ressonância magnética nuclear (NMR, do inglês, *nuclear magnetic resonance*); ni – não informado.

Fonte: Próprio autor (2020).

De acordo com a Tabela 1.3, é possível perceber que a determinação de aminoácidos livres em diferentes méis de melato foi realizada especialmente utilizando a técnica de HPLC, acoplado ao detector de fluorescência (FLD, do inglês, *Fluorescence Detector*). Além da

prolina, outros 29 aminoácidos foram encontrados, dentre os quais o ácido aspártico, ácido glutâmico, asparagina, serina, glutamina, histidina, glicina, treonina, arginina,  $\beta$ -alanina,  $\alpha$ -alanina, ácido  $\gamma$ -aminobutírico, tirosina, valina, triptofano, fenilalanina, isoleucina, leucina, ornitina, lisina, cisteína, metionina, hidroxiprolina, ácido  $\alpha$ -aminoadípico, ácido  $\alpha$ -aminobutírico, ácido  $\beta$ -aminobutírico, etilamina, homoserina e taurina.

Os teores de aminoácidos livres variaram marcadamente, dependendo da região e da origem botânica do mel de melato avaliado. A prolina foi o aminoácido majoritário encontrado em quase todos os méis de melato analisados, com concentrações entre 0,02 e 0,09% (peso úmido) (JANISZEWSKA; ANIOŁOWSKA; NOWAKOWSKI, 2012; KIVRAK, 2015; PÉREZ et al., 2007; SILICI; KARAMAN, 2014). Entretanto, dependendo do estudo, os demais aminoácidos majoritários individuais variaram, normalmente, de não detectado à concentrações próximas a 0,2% (peso úmido) (AZEVEDO et al., 2017a; CARRATÙ et al., 2011; CHUA; ADNAN, 2014; KIVRAK, 2015; PÉREZ et al., 2007; SILICI; KARAMAN, 2014). Com isso, é possível inferir de uma forma generalizada que além da prolina, o ácido aspártico, ácido glutâmico, asparagina, glutamina, fenilalanina,  $\alpha$ -alanina, arginina, tirosina, leucina e ácido  $\gamma$ -aminobutírico são os aminoácidos majoritários presentes em méis de melato. Em mel de melato de bracinga (*M. scabrella* Bentham) foram encontrados os aminoácidos prolina, serina, asparagina, ácido aspártico e ácido glutâmico com concentrações que variaram de 60 a 1450 mg kg<sup>-1</sup> (AZEVEDO et al., 2017a), sendo o ácido glutâmico encontrado geralmente em maiores concentrações.

### 6.2.1 Estudos sobre a estabilidade de aminoácidos

O efeito provocado sobre aminoácidos presentes em amostras de méis por influência de alterações de temperatura e tempo de estocagem foi tema de alguns estudos. Os resultados encontrados em estudo realizado por Sanz et al. (2003) revelaram decréscimo do teor de alguns aminoácidos livres, especialmente da lisina, seguido da arginina,  $\gamma$ -aminobutírico e prolina em méis espanhóis (três méis florais e um mel de melato, todos de origem botânica desconhecida) armazenados durante 12 meses em temperaturas de 25 e 35 °C. O decréscimo, especialmente destes aminoácidos coincidiu com o notável aumento dos 2-furosilmetil-aminoácidos, oriundos de compostos de Amadori.

Alterações no teor de aminoácidos livres também foram avaliados em 54 amostras de méis espanhóis, compreendendo méis florais (origem botânica desconhecida), de melato

(*Quercus pyrenaica*) e *blends* (origem botânica desconhecida) durante 24 meses, armazenados à temperatura ambiente (não especificado). Independentemente do tipo de mel, o teor de aminoácidos livres totais e de grande parte dos aminoácidos individuais investigados, principalmente o ácido glutâmico, arginina e glutamina, decresceram ao longo do tempo de armazenamento, especialmente nos nove primeiros meses. Os autores sugeriram que o decréscimo da concentração de grande parte desses aminoácidos estava relacionado às suas participações em reações com açúcares na reação de Maillard, com a formação de melanoidinas. Apenas as concentrações de ácido aspártico,  $\beta$ -alanina e prolina aumentaram nos primeiros meses de armazenamento, alcançando valores máximos em seis meses, sugerindo a ação de enzimas proteolíticas na liberação de aminoácidos ao longo do armazenamento (IGLESIAS et al., 2006).

### 6.3 Ácidos orgânicos alifáticos

Os ácidos orgânicos alifáticos são comumente encontrados em concentrações de aproximadamente 0,5% (peso úmido) em méis (NAVARRETE et al., 2005) e estão fortemente relacionados à acidez livre dessa matriz, além do pH, condutividade elétrica, sabor e aroma (DEL CAMPO et al., 2016; MATO et al., 2006).

O ácido glucônico é o ácido orgânico alifático predominante em méis florais e de melato, apresentando teores que comumente variam de 0,1 a 0,6% (peso úmido) (MATO et al., 2006; NOZAL et al., 2003; SUÁREZ-LUQUE et al., 2002; TEZCAN et al., 2011). Este ácido é produzido pela ação da glicose oxidase (armazenada na glândula hipofaríngea das abelhas) que atua sobre a glicose presente no néctar ou no melato recolhido pelas abelhas. Essa reação envolve a oxidação da glicose em peróxido de hidrogênio e gluconolactona, que em presença de água resulta no ácido glucônico (SCHEPARTZ; SUBERS, 1964; TAKAHASKI; MITSUMOTO, 1963). Além do ácido glucônico, outros ácidos são encontrados e alguns destes estão fortemente relacionados à perda do frescor do mel, a exemplo da presença de ácido acético em méis, como resultado da ocorrência de fermentação devido à ação de microrganismos osmotolerantes sobre a frutose e glicose (CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006). A presença dos ácidos levulínico e fórmico também pode estar relacionada ao decaimento da qualidade do mel, uma vez que estes ácidos podem ser formados pela reidratação do 5-HMF (SHAPLA et al., 2018).

Na Tabela 1.4 são apresentados estudos relacionados à determinação de ácidos orgânicos alifáticos em méis de melato de diferentes origens nos últimos anos.

Tabela 1.4 – Ácidos orgânicos de baixa massa molar pesquisados em méis de melato de diferentes origens

| <b>Origem geográfica / botânica</b>                  | <b>Ácidos investigados</b>   | <b>Ácidos encontrados</b>  | <b>Técnica analítica</b> | <b>Referência bibliográfica</b> |
|--|--|--|--------------------------|---------------------------------|
| Brazil / <i>Mimosa scabrella</i> Bentham             | Maleico, malônico, fumárico, tartárico, fórmico, cítrico, málico, glicólico, lático, glucônico, succínico, glutárico, acético, propiônico                                  | Todos, com exceção dos ácidos fumárico e tartárico   | CE-DAD                   | (BRUGNEROTTO et al., 2019)      |
| Alemanha / ni  | Fórmico, fumárico, pirúvico, tartárico, málico, cítrico, succínico   | Todos, com exceção dos ácidos pirúvico e málico  | Espectrometria por NMR   | (OHMENHAEUSER et al., 2013)     |
| Turquia / <i>Pinus</i> sp. e <i>Quercus</i>          | Tartárico, málico, maleico, cítrico, succínico, fumárico   | Todos  | HPLC-DAD                 | (HAROUN et al., 2012a)          |
| Turquia / <i>Pinus</i> sp.                           | Oxálico, glucônico, fórmico, succínico, málico, cítrico  | Todos  | CE-DAD                   | (TEZCAN et al., 2011)           |
| Diversos / ni  | Quínico, glucônico, cítrico  | Todos  | GC-MS                    | (SANZ et al., 2005)             |
| Espanha / <i>Quercus ilex</i> e <i>Quercus robur</i> | Oxálico, succínico, D-glucurônico, cítrico, galacturônico, quínico, propiônico, pirúvico, málico, citramálico, D-glucônico, lático, fórmico, glutárico, butírico, fumárico | Todos, com exceção dos ácidos D-glucurônico, galacturônico, pirúvico, citramálico, quínico, lático, butírico | HPLC-UV-Vis              | (NOZAL et al., 2003)            |
| Suíça / ni   | Oxálico e fórmico  | Todos  | Método enzimático - kit  | (BOGDANOV et al., 2002)         |
| Espanha / <i>Quercus ilex</i> e <i>Quercus robur</i> | Oxálico (como oxalato)   | Oxálico  | IC-CD                    | (NOZAL et al., 2000)            |

Legenda: ni – não informado; cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês, *high performance liquid chromatography*); cromatografia a gás (GC, do inglês, *gas chromatography*); eletroforese capilar (CE, do inglês, *capillary electrophoresis*); cromatografia iônica (IC, do inglês, *ion-chromatography*); detector de arranjo de diodos (DAD, do inglês, *diode array detector*); UV-Vis (ultravioleta e visível); espectrometria de massas (MS, do inglês, *mass spectrometry*); ressonância magnética nuclear (NMR, do inglês, *nuclear magnetic resonance*); detector por condutividade (CD, do inglês, *conductivity detector*).

**Fonte:** Próprio autor (2020).

As informações apresentadas na Tabela 1.4, demonstram que diversos ácidos orgânicos alifáticos foram investigados e identificados em méis de melato de diferentes origens botânicas e geográficas, especialmente com o uso da técnica de HPLC. Além do ácido glucônico, encontrado comumente em concentrações que variam de 0,1 a 0,3% (peso úmido) (NOZAL et al., 2003; SANZ et al., 2005; TEZCAN et al., 2011), outros ácidos também identificados em méis de melato foram os ácidos glutárico, propiônico, oxálico, fórmico, maleico, tartárico, succínico, fumárico, málico, quínico, malônico, glicólico, láctico, acético e cítrico, presentes frequentemente em concentrações individuais inferiores a 0,1% (peso úmido) (BOGDANOV et al., 2002; BRUGNEROTTO et al., 2019; HAROUN et al., 2012a; NOZAL et al., 2003; OHMENHAEUSER et al., 2013; SANZ et al., 2005; TEZCAN et al., 2011).

### 6.3.1 Estudos sobre a estabilidade de ácidos orgânicos alifáticos

Alguns estudos publicados na literatura contemplam o efeito da temperatura e tempo de estocagem sobre o pH e acidez dos méis, uma vez que estes parâmetros são muito afetados pelos ácidos orgânicos alifáticos. No entanto, alguns poucos estudos abordaram os efeitos causados aos ácidos orgânicos alifáticos individuais, restringindo-se aos ácidos voláteis.

No estudo realizado por Cavia et al. (2007), foram armazenadas 35 amostras de méis florais (origem botânica desconhecida) da Espanha, à temperatura ambiente (15 a 25 °C) ao longo de 30 meses, sendo que foi observado a estabilidade do pH até os primeiros 15 a 20 meses de estocagem. A acidez livre foi outro parâmetro que também se manteve praticamente constante até os primeiros 15 meses, com subsequente decréscimo até o vigésimo mês, seguido de um constante aumento em quase todas as amostras até o 30º mês do estudo. Além da ação enzimática própria do mel como da glicose oxidase, a formação de ácidos por meio da degradação do 5-HMF também foi citada como possível contribuinte no aumento da acidez livre do mel ao longo do seu armazenamento. Com relação à acidez em lactona, foi observada uma pequena instabilidade ao longo do armazenamento das amostras estudadas, sendo que uma tendência de decréscimo após os primeiros 20 meses foi registrada. A mesma tendência de oscilação foi observada para a acidez total ao longo do armazenamento, a qual pareceu ser influenciada pela instabilidade da acidez em lactona.

Em outro estudo que avaliou amostras de mel cítrico espanhol, a acidez livre e acidez em lactona aumentaram significativamente com o tempo (12 meses) e temperatura de estocagem

(10, 20 e 40 °C). As maiores alterações foram observadas em amostras armazenadas a 40 °C, com a acidez livre variando de 16,7 para 22,0 mEq kg<sup>-1</sup>, e a acidez em lactona de 8,1 para 13,8 mEq kg<sup>-1</sup>. O teor de grande parte dos ácidos orgânicos voláteis, como ácido acético, ácido butanoico e ácido hexanoico, aumentaram com a estocagem e com a temperatura. O aumento das concentrações dos ácidos orgânicos voláteis, em especial o ácido acético (variando de não detectado para 443,9 µg kg<sup>-1</sup>, para concentração inicial e final de armazenamento a 40 °C, respectivamente), parece ter influenciado na acidez do mel, a qual afetou negativamente o aspecto sensorial do produto. Em relação ao pH, não foi observada mudança significativa durante o tempo e temperatura de estocagem (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008).

Méis de caju e marmeleiro brasileiros com e sem adição de metabissulfito de sódio foram estocados sob aquecimento (35-40 °C) durante três e seis meses, sendo que apenas nas amostras frescas o ácido propiônico foi detectado, sugerindo que este ácido orgânico é sensível ao aquecimento e tempo de armazenamento (MOREIRA et al., 2010).

Em mel de urze espanhol estocado por 12 meses em três diferentes temperaturas (10, 20 e 40 °C), um aumento significativo foi observado para acidez livre, acidez em lactona e na concentração de ácidos orgânicos voláteis, especialmente a 40 °C. O aumento na concentração de ácidos orgânicos voláteis foi relacionado com o aumento do processo de fermentação, o qual afetou negativamente as características sensoriais do mel, sendo que a concentração de ácido acético aumentou com a temperatura de estocagem (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012).

#### 6.4 Minerais

O perfil e especialmente o teor de minerais presentes em méis pode ser um reflexo do solo e vegetação do local de colheita do néctar ou melato (FERMO et al., 2013; PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008). Muitos destes elementos possuem relevante importância nutricional (FERMO et al., 2013), como por exemplo o potássio, cálcio, sódio, magnésio, ferro, manganês, cobre, selênio, fósforo, enxofre e zinco (CZIPA; ANDRÁSI; KOVÁCS, 2015; PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008).

O teor de minerais normalmente é elevado em méis escuros ou de melato, podendo alcançar valores próximos a 0,3% (peso úmido) (ESCUREDO; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ; SEIJO, 2012; NALDA et al., 2005; VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011), enquanto que méis claros apresentam habitualmente menores teores desses elementos, com concentrações inferiores ou próximas a 0,1% (peso úmido), ou seja, o teor de minerais mostra-se fortemente relacionado à cor dos méis (ESCUREDO et al., 2013; GONZÁLEZ-MIRET et al., 2005;

VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011). Em consequência, condutividade elétrica alta também é uma característica marcante em méis de melato quando comparados a méis florais, especialmente os que apresentam coloração clara, uma vez que é comprovada a relação entre esse parâmetro e o teor de minerais (CAN et al., 2015; FECHNER et al., 2016; SAXENA; GAUTAM; SHARMA, 2010).

Na Tabela 1.5 são apresentados estudos relacionados a determinação de minerais em méis de melato de diferentes origens nos últimos anos.

Tabela 1.5 – Minerais pesquisados em méis de melato de diferentes origens (continua)

| <b>Origem geográfica / botânica</b>   | <b>Minerais investigados</b>  | <b>Minerais encontrados</b>      | <b>Técnica analítica</b> | <b>Referência bibliográfica</b>         |
|---|---|----------------------------------|--------------------------|---|
| Croácia / <i>Abies alba</i> , <i>Quercus ilex</i> , <i>Quercus frainetto</i> , <i>Acer monspessulanum</i> e silvestre | Al, Ca, Fe, K, Mg, P, S, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Sr, Zn | Todos                            | ICP-OES/<br>ICP-MS       | (VASIĆ et al., 2020)                    |
| Espanha / <i>Quercus</i> sp.  | Mg, Cu, Fe, P, Zn, Na, K, Ca  | Todos                            | AAS/ AES                 | (RODRÍGUEZ-FLORES et al., 2019)         |
| Brasil / <i>Mimosa scabrella</i> Bentham  | K, Ca, Na, Mg, Mn   | Todos, com exceção do Mn         | CE-DAD                   | (BERGAMO et al., 2018)                  |
| Índia / <i>Pinus</i> sp.  | Ca, K, Na, P  | Todos                            | AAS                      | (NAYIK; NANDA, 2016b)                   |
| Bulgária / ni   | K, Ca, Mg, P, S, Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, V, Zn      | Todos, com exceção do Cd, Co e V | ICP-AES                  | (ATANASSOVA ; LAZAROVA; YURUKOVA, 2016) |
| Índia / <i>Pinus</i> sp.  | K, Ca, Na, P  | Todos                            | AAS                      | (NAYIK et al., 2018)                    |
| Bulgária / ni   | Pb, Cd, Cu, Zn, Fe, Mn, Co  | Todos                            | AAS                      | (MARINOVA et al., 2015)                 |
| Polônia / ni  | Cu, Zn  | Todos                            | FAAS                     | (STECKA et al., 2014)                   |
| Espanha / ni  | K, Ca, Fe, Mg, Na, P, Zn, Cu  | Todos                            | AAS                      | (ESCUREDO et al., 2013)                 |
| Itália e região do Balcãs / ni  | Na, K, Ca, Mg, Cl, Br   | Todos                            | IC-CD                    | (FERMO et al., 2013)                    |

Tabela 1.5 – Minerais pesquisados em méis de melato de diferentes origens (conclusão)

| <b>Origem geográfica / botânica</b> | <b>Minerais investigados</b>   | <b>Minerais encontrados</b>       | <b>Técnica analítica</b> | <b>Referência bibliográfica</b>             |
|-------------------------------------|--|-----------------------------------|--------------------------|---|
| Espanha / ni                        | K, Ca, Fe, Mg, Na, P, Zn, Cu   | Todos                             | AAS                      | (ESCUREDO; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ; SEIJO, 2012) |
| Polônia / árvores coníferas         | Ca, Fe, Mg, Zn   | Todos                             | FAAS                     | (POHL et al., 2012b)                        |
| Polônia / árvores coníferas         | Ca, Fe, Mg, Zn, Cu, Mn   | Todos                             | FAAS                     | (POHL et al., 2012c)                        |
| Nova Zelândia / ni                  | Al, As, B, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Zn                       | Todos, com exceção do Cr, Mo e Pb | ICP-OES                  | (VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011)           |
| Polônia / ni                        | Al, B, Ba, Ca, Cd, Cu, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Zn   | Todos                             | ICP-MS                   | (CHUDZINSKA; BARALKIEWICZ, 2010)            |
| Polônia / ni                        | Al, B, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Zn   | Todos                             | FAAS/AES e ICP-MS        | (MADEJCZYK; BARALKIEWICZ, 2008)             |
| Itália / ni                         | Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Th, Tl, U, Zn | Todos, com exceção do Hg          | ICP-OES e ICP-MS         | (PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008)          |
| Turquia / <i>Pinus</i> sp.          | K, Ca, Mg, Na, Fe, Zn, Cu  | Todos                             | ni                       | (TURHAN et al., 2008)                       |
| Suíça / ni                          | Cd, Pb, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn   | Todos                             | ICP-SFMS                 | (BOGDANOV et al., 2007)                     |
| Itália / ni                         | Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn  | Todos                             | AAS                      | (CONTI et al., 2007)                        |
| República Tcheca / ni               | Al, B, Ca, Cu, Mg, Mn, Ni, Zn  | Todos                             | FAAS e ICP-OES           | (LACHMAN et al., 2007)                      |
| Espanha / <i>Quercus</i> sp.        | Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, P, Pb, S, Si, Zn                      | Todos, com exceção do Be          | ICP-OES                  | (GONZÁLEZ-MIRET et al., 2005)               |
| Eslovênia / ni                      | K, Cl, S, P, Ca, Mn, Rb, Cu, Fe, Ni, Cr, Br, Ti, Pb, Sr, As                              | Apenas K, Cl, S, Ca, Mn, Rb, Br   | TXRF                     | (GOLOB et al., 2005)                        |
| Espanha / <i>Quercus</i> sp.        | K, Na, Mg, Ca, Al, Fe, Mn, Zn, B, Cu, Co, Cr, Ni, Cd, Pb                                 | Todos                             | AES e ICP-OES            | (NALDA et al., 2005)                        |
| Marrocos / ni                       | K, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn  | Todos                             | ICP-AES                  | (DIEZ; ANDRES; TERRAB, 2004)                |
| Marrocos / ni                       | Zn, Mn, Fe, Mg, Cu, K  | Todos                             | ICP-AES                  | (TERRAB et al., 2003a)                      |

Legenda: ni – não informado; Na (sódio); K (potássio); Mg (magnésio); Ca (cálcio); Fe (ferro); Zn (zinco); Cu (cobre); Pb (chumbo), Cd (cádmio); Cr (cromo), P (fósforo); S (enxofre); Al (alumínio); As (arsênio); Co (cobalto); Ni (níquel); Sr (estrôncio); V (vanádio); B (boro); Br (bromo); Mo (molibdênio); Ba (bário); Hg (mercúrio); Sb (antimônio); Se (selênio); Th (tório); Tl (tálio); U (urânio); Rb (rubídio); Ti (titânio); Be (berílio); Si (silício); Mn (manganês); Cl (cloro); Li (lítio); plasma indutivamente acoplado (ICP, do inglês, *inductively coupled plasma*); espectrometria de absorção atômica (AAS, do inglês, *atomic absorption spectroscopy*); cromatografia iônica (IC, do inglês, *ion chromatography*); espectrometria de fluorescência de raios-X com reflexão total (TXRF, do inglês, *total reflection x-ray fluorescence spectrometry*); espectrometria de absorção atômica de chama (FAAS, do inglês, *flame atomic absorption spectroscopy*); espectrometria de massas (MS, do inglês, *mass spectrometry*); espectrometria de emissão atômica (AES, do inglês, *atomic emission spectrophotometer*); detector por condutividade (CD, do inglês, *conductivity detector*); espectrometria de emissão óptica (OES, do inglês, *optical emission spectroscopy*); espectrometria de massas de setor de campo (SFMS, do inglês, *sector field mass spectrometry*); eletroforese capilar (CE, do inglês, *capillary electrophoresis*); detector de arranjo de diodos (DAD, do inglês, *diode array detector*).

**Fonte:** Próprio autor (2020).

De acordo com a Tabela 1.5, diversos minerais já foram investigados e identificados em méis de melato de diferentes origens botânicas e geográficas, especialmente utilizando espectrometria de absorção atômica (AAS, do inglês, *atomic absorption spectroscopy*) e espectrometria de absorção atômica de chama (FAAS, do inglês, *flame atomic absorption spectroscopy*), além de plasma indutivamente acoplado (ICP, do inglês, *inductively coupled plasma*) à diferentes espectrômetros. Alguns dos minerais mais encontrados em méis de melato são o potássio, sódio, cálcio, magnésio, fósforo, alumínio, zinco, ferro, cobre, entre outros.

Dentre os minerais encontrados em méis de melato, o potássio destaca-se como o composto majoritário, apresentando normalmente concentrações superiores a méis florais e correspondendo, frequentemente, a mais de 60% do total de minerais encontrados no mel (ESCUREDO; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ; SEIJO, 2012; NAYIK et al., 2018; PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008; TURHAN et al., 2008). Outros macroelementos, normalmente encontrados em concentrações inferiores a 0,01% (peso úmido) da composição do mel, também foram observados em altas concentrações em méis de melato em comparação a méis florais, como o magnésio e fósforo em méis de melato da Espanha e da Nova Zelândia (ESCUREDO et al., 2013; VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011); sódio e fósforo em méis de melato de *Pinus* (NAYIK et al., 2018); sódio e magnésio em méis de melato da Polônia (MADEJCZYK; BARALKIEWICZ, 2008).

Alguns estudos também observaram maiores concentrações de minerais considerados microelementos e elementos traços em méis de melato em comparação a méis florais, como de

cobalto, cobre e tório em méis de melato da Itália (PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008); cobre, zinco e níquel em méis de melato da Polônia (CHUDZINSKA; BARALKIEWICZ, 2010); e cobre e zinco em méis de melato da Polônia (MADEJCZYK; BARALKIEWICZ, 2008). Apesar de minerais tóxicos, como arsênio e chumbo, terem sido encontrados em méis de melato, as suas concentrações foram consideradas baixas, não representando um risco à saúde do consumidor (ATANASSOVA; LAZAROVA; YURUKOVA, 2016; MARINOVA et al., 2015; PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008).

#### 6.4.1 Estudos sobre a estabilidade de minerais

Até o presente momento não foram encontrados estudos que relacionam a influência do armazenamento do mel sobre os minerais, provavelmente por serem considerados menos sujeitos à degradação promovida pelo calor, luz, valores de pH extremos, agentes oxidantes, entre outros (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Por outro lado, conhecer a estabilidade desses elementos em méis demonstra forte importância, uma vez que os mesmos podem participar de reações com outros compostos presentes nessa matriz.

#### 6.5 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são produtos resultantes do metabolismo secundário de fungos, bactérias e especialmente de plantas, envolvidos no sistema de defesa, atração de polinizadores, entre outros (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005; CHEYNIER et al., 2013; SIMÕES et al., 2010; TAIZ; ZEIGER, 2009). Estes compostos são caracterizados por apresentar em sua estrutura um grupo fenol, constituído de uma hidroxila ligada a um anel aromático (TSAO, 2010; VERMERRIS; NICHOLSON, 2006).

Os compostos fenólicos são uma das principais classes de compostos investigados quanto às suas propriedades antioxidantes (LIN; CHANG; CHANG, 2018; OLSZOWY, 2019). O perfil e a concentração de compostos fenólicos em méis diferem amplamente tanto entre as diferentes origens botânicas e geográficas a que pertencem, quanto à sua classificação (florais ou de melato). No entanto, concentrações superiores de compostos fenólicos individuais são normalmente encontradas em méis de melato em comparação aos méis florais (CAN et al., 2015; ESCRICHE et al., 2014; KARABAGIAS et al., 2016; SOCHA et al., 2011).

Na Tabela 1.6, são apresentados estudos relacionados à determinação de compostos fenólicos em méis de melato de diferentes origens.

Tabela 1.6 – Compostos fenólicos encontrados em méis de melato de diferentes origens

(continua)

| <b>Origem geográfica / botânica</b>      | <b>Compostos investigados</b>   | <b>Compostos encontrados</b>  | <b>Técnica analítica</b> | <b>Referência bibliográfica</b>        |
|--|---|---|--------------------------|--|
| Romênia / ni                             | Apigenina, ácido cafeico, crisina, galangina, ácido gálico, isoramenetina, kaempferol, luteolina, miricetina, ácido <i>p</i> -cumárico, pinocembrina, quercetina  | Todos   | HPLC-DAD                 | (OROIAN; ROPCIUC, 2019)                |
| Brasil / <i>Mimosa scabrella</i> Bentham | Ácido gálico, ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido clorogênico, ácido siríngico, ácido cafeico, ácido <i>p</i> -cumárico, ácido ferúlico, coniferaldeído, ácido benzoico, ácido salicílico, rutina, hesperidina, luteolina, quercetina, pinobanksina, naringenina, kaempferol, isoramenetina  | Ácido gálico, ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido <i>p</i> -cumárico, ácido benzoico, ácido salicílico, rutina, luteolina, quercetina, naringenina     | HPLC-DAD                 | (SILVA et al., 2019a)                  |
| Grécia / <i>Pinus</i> e <i>Abies</i>     | Quercetina, kaempferol, crisina, miricetina, ácido siríngico  | Todos   | HPLC-UV-Vis              | (KARABAGIAS et al., 2016)              |
| República Tcheca / ni                    | Ácidos gálico, <i>p</i> -hidroxibenzoico, clorogênico, vanílico, cafeico, siríngico, <i>p</i> -cumárico, trans-cinâmico, <i>m</i> -cumárico, ferúlico, sinápico, isoferúlico e salicílico, miricetina, quercetina, luteolina, naringenina, apigenina, pinobanksina, kaempferol, crisina, pinocembrina, galangina ramnetina, pinobanksina-3-acetato  | Todos, com exceção do ácido siríngico, pinobanksina-3-acetato, crisina e ramnetina  | HPLC-ESI-MS              | (HALOUZKA; TARKOWSKI; ZELJKOVIĆ, 2016) |
| Brasil / <i>Mimosa scabrella</i> Bentham | Ácidos <i>p</i> -aminobenzoico, benzoico, cafeico, clorogênico, <i>p</i> -cumárico, 3,4-dihidroxibenzoico, ferúlico, gálico, salicílico, siríngico, sinápico e vanílico, coniferaldeído, crisina, galangina, hesperidina, isoramnetina, kaempferol, luteolina, naringenina, pinobanksina, pinocembrina, quercetina, rutina/composto desconhecido, siringaldeído, catequina, epicatequina, epigalocatequina galato, 4-metilumberliferona, naringina, sinapaldeído, apigenina | Todos, com exceção do ácido sinápico, ácido vanílico, catequina, epicatequina, epigalocatequina galato, 4-metilumberliferona, naringina, sinapaldeído | LC-ESI-MS/MS             | (SERAGLIO et al., 2016)                |

Tabela 1.6 - Compostos fenólicos encontrados em méis de melato de diferentes origens

(continuação)

| Origem geográfica / botânica                        | Compostos investigados   | Compostos encontrados  | Técnica analítica         | Referência bibliográfica           |
|---|--|--|---------------------------|------------------------------------|
| Turquia / <i>Pinus</i> L. e <i>Quercus robur</i> L. | Ácidos gálico, protocatecuico, <i>p</i> -hidroxibenzoico, clorogênico, vanílico, cafeico, siríngico, <i>p</i> -cumárico e ferúlico, rutina, quercetina, apigenina, kaempferol, isoramnetina, catequina, epicatequina   | Todos, com exceção dos ácidos clorogênico e vanílico, catequina, quercetina, kaempferol e isoramnetina | HPLC-UV-Vis               | (CAN et al., 2015)                 |
| Espanha / floresta                                  | Naringenina, hesperitina, ácido cafeico, ácido <i>p</i> -cumárico, pinocembrina, crisina, galangina, quercetina, kaempferol, miricetina  | Todos  | HPLC-UV-Vis               | (ESCRICHE et al., 2014)            |
| Grécia / <i>Pinus</i> e <i>Abies</i>                | Quercetina, kaempferol, crisina, miricetina, ácido siríngico   | Todos  | HPLC-UV-Vis               | (KARABAGIAS et al., 2014b)         |
| Eslováquia / <i>Abies</i>                           | Ácidos cafeico, <i>p</i> -cumárico e ferúlico, quercetina, naringenina-7-metil éter, apigenina, naringenina, kaempferol, hesperitina, isoramnetina, crisoeriol, 8-metoxi-kaempferol, quercetina-3,7-dimetil éter, crisina, pinocembrina, galangina, galangina metil éter | Todos, com exceção do ácido cafeico, kaempferol e hesperitina  | HPLC-DAD e HPLC-ESI-MS/MS | (MAJTAN et al., 2013)              |
| Turquia / <i>Pinus</i> sp. e <i>Quercus</i>         | Ácidos protocatecuico, cafeico, siríngico, <i>p</i> -cumárico, ferúlico e elágico, miricetina, quercetina, luteolina, apigenina, kaempferol, pinocembrina, crisina, acacetina, metil siringato   | Todos, com exceção da miricetina, luteolina e kaempferol   | HPLC-UV-Vis               | (HAROUN et al., 2012b)             |
| Croácia / <i>Salix</i> spp.                         | Ácidos benzoico, 2-hidroxibenzoico (ácido salicílico), cinâmico, 4-hidroxibenzoico, vanílico e ácido 4-hidroxicinâmico, siringaldeido, metil siringato   | Todos  | GC-MS                     | (JERKOVIĆ et al., 2010)            |
| República Tcheca / ni                               | Ácido ferúlico, crisina, apigenina   | Todos  | HPLC-DAD                  | (LACHMAN et al., 2010a)            |
| Polônia / ni  | Ácidos gálico, <i>p</i> -cumárico, ferúlico, siríngico, cafeico, sinápico e clorogênico, crisina, galangina, hesperitina, kaempferol, quercetina, naringenina  | Todos, com exceção da crisina e galangina  | HPLC-UV-Vis               | (SOCHA et al., 2011)               |
| Itália / ni   | Ácidos gálico, clorogênico, <i>p</i> -cumárico e cafeico, miricetina, quercetina, genístico, kaempferol, apigenina, crisina, galangina   | Todos  | HPLC-UV-Vis               | (PICHICHERO; CANUTI; CANINI, 2009) |

Tabela 1.6 - Compostos fenólicos encontrados em méis de melato de diferentes origens

(conclusão)

| Origem geográfica / botânica   | Compostos investigados  | Compostos encontrados  | Técnica analítica | Referência bibliográfica                   |
|--|---|--|-------------------|--|
| ni / ni  | Ácidos quínico, shikimico, gálico, homogentísico, protocatecuico, 3,4-dihidroxifenilacético, gentísico, 4-hidroxibenzoico, clorogênico, mandélico, 4-hidroxifenilacético, cafeico, vanílico, siringico, 4-hidroxifenilpropionico, <i>p</i> -cumárico, $\beta$ -fenilalático, ferúlico, sinápico, acetilsalicílico, fenilacético, elágico, benzoico, salicílico, <i>p</i> -anísico, hidrocinnâmico, abicísico, cinâmico e 4-metoxycinnâmico, kaempferol, apigenina, crisina, floroglucinol, 4-metilpirocatecol, miricetina, quercetina | Todos, com exceção do ácido shikimico, ácido sinápico, ácido acetilsalicílico e miricetina | UPLC-MS           | (TRAUTVETTER; KOELLING-SPEER; SPEER, 2009) |
| Itália e França / <i>Abies alba</i> , da floresta de Pyrenean e de árvores coníferas | Ácidos benzoico, salicílico, cinâmico e ferúlico, pinocembrina, crisina, acacetina, galangina, pinostrobin chalcona, pinobanksina chalcona, 5-metoxi-3,7-dihidroxiflavanona, tectocrisina, metil siringato  | Todos  | GC-MS             | (DAHER; GÜLAÇAR, 2008)                     |
| Nova Zelândia / ni   | Ácidos 4-hidroxibenzoico, vanílico, siringico, 4-hidroxycinnâmico, benzoico, cinâmico, metil siringato, pinobanksina, pinocembrina, crisina, galangina  | Todos  | HPLC-UV-Vis       | (WESTON; BROCKLEBANK; LU, 2000)            |

Legenda: ni – não informado; cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês, *high performance liquid chromatography*); cromatografia a gás (GC, do inglês, *gas chromatography*); cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC, do inglês, *ultra performance liquid chromatography*); espectrometria de massas (MS, do inglês, *mass spectrometry*); detector de arranjo de diodos (DAD, do inglês, *diode array detector*); UV-Vis (ultravioleta e visível); ionização por eletronebulização (ESI, do inglês, *electrospray ionization*); cromatografia líquida (LC, do inglês, *liquid chromatography*); espectrometria de massas em tandem (MS/MS, do inglês, *mass spectrometry/mass spectrometry*).

**Fonte:** Próprio autor (2020).

De acordo com a Tabela 1.6, a determinação de compostos fenólicos em méis de melato é amplamente realizada empregando HPLC acoplada aos detectores UV-Vis (ultravioleta e visível), espectrometria de massas e arranjo de diodos (DAD, do inglês, *diode array detector*). Uma ampla variedade de compostos fenólicos, especialmente ácidos fenólicos e flavonoides

foram investigados e determinados em diversas amostras de méis de melato de diferentes origens, sendo que as concentrações individuais encontradas variaram entre não detectado a próximos a 2000  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  (CAN et al., 2015; DAHER; GÜLAÇAR, 2008; ESCRICHE et al., 2014; HAROUN et al., 2012b; MAJTAN et al., 2013; SERAGLIO et al., 2016). Dentre os compostos fenólicos mais encontrados em méis de melato pode-se destacar: ácido *p*-cumárico, crisina, epicatequina, pinocembrina, naringenina, ácido ferúlico, quercetina, ácido siríngico, miricetina, metil siringato, apigenina, ácido gálico, ácido clorogênico, galangina, ácido cafeico, ácido protocatecuico, kaempferol e ácido vanílico.

Em mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.), nos estudos publicados por Seraglio et al. (2016) e Silva et al. (2019a) foram identificados um total de 24 compostos fenólicos, com destaque para os ácidos salicílico (0,81 a 20,10  $\text{mg kg}^{-1}$ ), 3,4-dihidroxibenzoico (1,28 a 28,76  $\text{mg kg}^{-1}$ ), benzoico (1,18 a 15,20  $\text{mg kg}^{-1}$ ) e *p*-cumárico (0,36 a 7,01  $\text{mg kg}^{-1}$ ), além da rutina (0,09 a 52,13  $\text{mg kg}^{-1}$ ) e luteolina (0,06 a 16,05  $\text{mg kg}^{-1}$ ). Ainda, foram reportados pela primeira vez na literatura, a presença de ácido *p*-aminobenzoico, luteolina, hesperidina, isorahmenetina, pinobanksina e coniferaldeído em méis de melato.

#### 6.5.1 Estudos sobre a estabilidade de compostos fenólicos

São poucos os estudos que relacionam a influência da temperatura e tempo de armazenagem frente à estabilidade de compostos fenólicos em méis. Os estudos publicados na literatura na maioria das vezes caracterizam as alterações ocorridas aos compostos fenólicos voláteis, excluindo muitas outras substâncias igualmente importantes e que pertencem a esta classe.

Em estudo publicado por Kaškonienė, Venskutonis e Čeksterytė (2008) foi possível conhecer o perfil de compostos voláteis em méis florais (origem botânica desconhecida) da Lituânia armazenados por três meses a baixa temperatura (6-8 °C). Dentre os compostos avaliados, o ácido benzoico foi identificado em algumas amostras de mel, sendo observada uma tendência de decréscimo na concentração desse composto após o armazenamento em grande parte das amostras.

Amostras de mel de caju e marmeleiro brasileiros com e sem adição de metabissulfito de sódio foram estocados por três e seis meses, sob aquecimento (35-40 °C), e avaliado o perfil de compostos voláteis. Os resultados demonstraram que houve um aumento na concentração de ácido benzoico em mel de caju e de marmeleiro após três meses de estocagem, seguido de um decréscimo com o retorno para concentrações próximas àquelas encontradas na amostra fresca.

Por outro lado, na presença de metabissulfito (ação antioxidante) no mel, os autores observaram um comportamento contrário ao das amostras frescas, a saber: (i) para o mel de caju, após três meses a concentração de ácido benzoico decaiu, seguido de um aumento após seis meses de estocagem; (ii) enquanto que para o mel de marmeleiro, um aumento gradual desse fenólico foi observado com o aumento do tempo de estocagem. Em relação à vanilina, esta substância foi apenas detectada em mel de marmeleiro, demonstrando relativa estabilidade ao longo do período de estocagem e na presença ou ausência do antioxidante (MOREIRA et al., 2010).

Em outro estudo foi avaliada a presença de compostos voláteis em mel de melato (*Quercus frainetto* Ten.) da Croácia coletado em diferentes anos (2005 e 2009) e estocados a 4 °C. Para o siringaldeído e os ácidos benzoico, cinâmico e vanílico, a concentração se manteve relativamente estável, quando considerados os diferentes tempos de armazenamento, sugerindo que estes compostos apresentam estabilidade satisfatória. Para os ácidos salicílico, 4-hidrobenzoico e *p*-cumárico, a maior concentração foi observada para a amostra armazenada por um tempo menor (coleta de 2009), indicando a sensibilidade desses compostos quando armazenados por longos períodos. Ademais, o ácido homovanílico foi detectado apenas na amostra com tempo de armazenamento menor (coleta de 2009) (JERKOVIC; MARIJANOVIC, 2010).

Em mel de urze da Espanha estocado por 12 meses em temperaturas de 10, 20 e 40 °C, a concentração do ácido benzoico e ácido cinâmico, avaliados pela investigação de compostos voláteis, passaram de 42,5 µg kg<sup>-1</sup> (mel fresco) para 35.139,1 µg kg<sup>-1</sup> (a 40 °C) e detectado em níveis traços (mel fresco) para 3.842,1 µg kg<sup>-1</sup> (a 40 °C), respectivamente (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012).

No estudo de Escriche et al. (2014), méis florais (cítrico, alecrim e polifloral) e de melato (silvestre) da Espanha foram submetidos a dois tratamentos: liquefação (45 °C por 48 h) e liquefação seguido de pasteurização (45 °C por 48 h + 80 °C por 4 min). Considerando todos os méis avaliados, foram encontrados dois ácidos fenólicos (ácidos cafeico e *p*-cumárico) e oito flavonoides (naringenina, hesperetina, pinocembrina, crisina, galangina, miricetina, quercetina e kaempferol) antes do processamento; após o tratamento térmico, foi observada uma redução significativa para os compostos galangina, kaempferol e ácido *p*-cumárico em relação às concentrações iniciais (mel não tratado), especialmente para a miricetina, que após o processo de liquefação seguido de pasteurização, reduziu a concentração de 2,7 para 0,5 mg 100 g<sup>-1</sup>.

## 7 Bioacessibilidade

Durante o processo de digestão gastrointestinal, nutrientes ingeridos na dieta podem ser liberados da matriz, tornando-se potencialmente disponíveis, ou seja, bioacessíveis para absorção especialmente no intestino (ALMINGER et al., 2014; CARBONELL-CAPELLA et al., 2014). Contudo, a bioacessibilidade de determinado nutriente é dependente da liberação deste da matriz alimentar ao qual pertence (concentração inicial do composto no alimento, composição da matriz) e do processo de digestão (composição química dos fluidos digestivos, pH, períodos de tempo de residência para cada etapa da digestão) (ETCHEVERRY; GRUSAK; FLEIGE, 2012; HELAL et al., 2014).

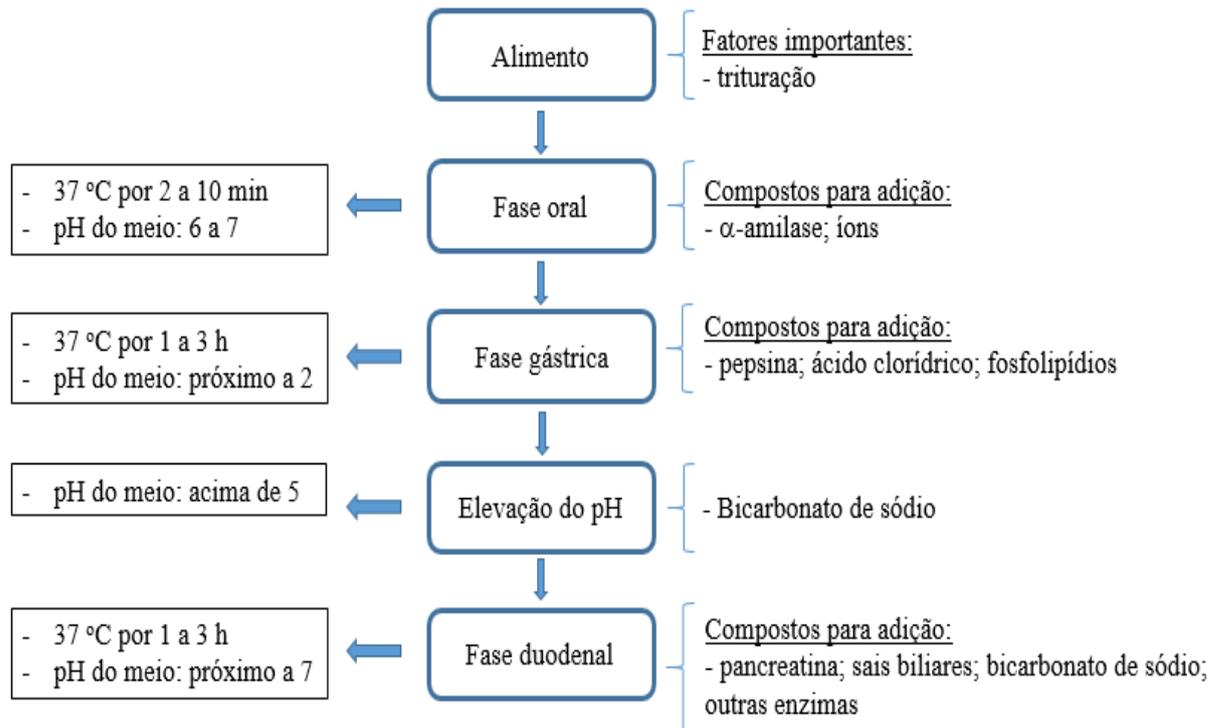
Métodos que buscam a simulação das condições de digestão gastrointestinal são comumente empregados como uma alternativa aos ensaios *in vivo* principalmente pela maior dificuldade, tempo e custos demandados nestes últimos (ALMINGER et al., 2014; BRODKORB et al., 2019; ETCHEVERRY; GRUSAK; FLEIGE, 2012), mesmo que os procedimentos *in vitro* apresentem limitações, principalmente relacionados à dificuldade de simulação do sistema gastrointestinal tal qual o sistema *in vivo*, devido a complexidade das reações e mecanismos envolvidos na liberação dos compostos da matriz, grau de liberação, interações com outros compostos, condições fisiológicas individuais (idade, genótipo, estado nutricional, quantidade de secreção gástrica e intestinal, tipo de microbiota bacteriana intestinal), entre outros (BRODKORB et al., 2019; ETCHEVERRY; GRUSAK; FLEIGE, 2012; MINEKUS et al., 2014).

Nesse contexto, a digestão *in vitro* ainda é uma forma viável para a obtenção de informações sobre possíveis interações entre nutrientes e outros componentes do alimento, efeitos de fatores luminiais (incluindo pH e enzimas), entre outros, na potencialidade de um determinado nutriente ser absorvido (bioacessibilidade) ou na sua efetiva absorção (biodisponibilidade) (BRODKORB et al., 2019; ETCHEVERRY; GRUSAK; FLEIGE, 2012). Assim, os estudos *in vitro* não podem substituir os estudos *in vivo*, devendo ser considerados uma ferramenta para obtenção de uma estimativa da bioacessibilidade e biodisponibilidade de um determinado composto que poderiam ser observadas em estudos *in vivo* (ETCHEVERRY; GRUSAK; FLEIGE, 2012; HELAL et al., 2014).

Os sistemas de digestão *in vitro* são conduzidos com a intenção de simular o mais próximo possível as condições encontradas *in vivo* (ALMINGER et al., 2014). Distintos protocolos de digestão gastrointestinal *in vitro* estáticos para a avaliação da bioacessibilidade são encontrados na literatura, sendo normalmente empregadas as etapas de digestão gástrica e

digestão duodenal (ALMINGER et al., 2014; EGGER et al., 2016; MINEKUS et al., 2014; TAGLIAZUCCHI et al., 2010; WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011). A Figura 1.3 tem como objetivo sintetizar as condições comumente empregadas na avaliação da bioacessibilidade *in vitro*.

Figura 1.3 – Procedimento genérico para avaliação da bioacessibilidade *in vitro*



**Fonte:** Adaptado de Alminger et al. (2014), Egger et al. (2016), Etcheverry, Grusak e Fleige (2012), Minekus et al. (2014), Tagliazucchi et al. (2010), Wootton-Beard, Moran e Ryan (2011).

De acordo com a Figura 1.3, a etapa oral, quando aplicada, consiste na mistura do alimento com a enzima  $\alpha$ -amilase salivar, na presença ou não de íons, por um curto tempo. Na sequência, na etapa gástrica, o alimento é normalmente exposto à presença da enzima pepsina em condições ácidas. Na etapa seguinte, normalmente são simuladas as condições do intestino delgado, em especial do duodeno, em que o pH do sistema é elevado próximo à neutralidade e adicionados os sais biliares e a enzima pancreatina. Esta última consiste em um conjunto de enzimas pancreáticas como a  $\alpha$ -amilase, lipase, ribonuclease, tripsina, entre outras. Outros fatores como o tempo de permanência do alimento em cada etapa, concentração de cada enzima, adição de outros compostos ou enzimas, concentração de amostra, pH de cada etapa, adição de bactérias do cólon, podem variar de acordo com o procedimento empregado no estudo (ALMINGER et al., 2014; BRODKORB et al., 2019; EGGER et al., 2016; ETCHEVERRY;

GRUSAK; FLEIGE, 2012; MINEKUS et al., 2014; TAGLIAZUCCHI et al., 2010; WOOTTON-BEARD; MORAN; RYAN, 2011; WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011).

### 6.1 Bioacessibilidade de compostos em méis

Durante o processo de digestão, possíveis alterações podem ocorrer na bioacessibilidade e biodisponibilidade de diferentes compostos do mel, derivados de mudanças nas propriedades físico-químicas desses elementos (POHL et al., 2012a, 2012c), bem como a interferência de outros componentes presentes na matriz alimentar (POHL et al., 2012c). Em méis, estudos relacionados à bioacessibilidade ou biodisponibilidade de constituintes ainda são escassos. A bioacessibilidade *in vitro* já foi investigada em méis em alguns estudos, até o presente momento, compreendendo a avaliação da capacidade antioxidante e efeito protetor do DNA (O'SULLIVAN et al., 2013), de minerais (BILUCA et al., 2017; POHL et al., 2012c) e de metilglioxal (DAGLIA et al., 2013).

O'Sullivan et al. (2013) observaram a ausência de diferenças significativas para a capacidade antioxidante avaliada pelo método de Folin-Ciocalteu antes e após a digestão *in vitro* em méis florais de diferentes origens botânicas. Porém, na avaliação da capacidade antioxidante de redução do ferro (FRAP, do inglês, *ferric reducing antioxidant power*) e da capacidade de desativação de radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH, do inglês, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), foi observado um decréscimo após a digestão *in vitro*.

Em méis de abelha sem ferrão (*Meliponinae*) de diferentes origens florais e em méis de *Apis mellifera* de diferentes origens florais e de melato proveniente de árvores coníferas e árvores caducifólias, diferentes minerais foram investigados e se mostraram bioacessíveis (BILUCA et al., 2017; POHL et al., 2012c).

Em estudo realizado em amostras de mel de Manuka (*Lectospermum scoparium*), o processo de digestão promoveu uma diminuição na concentração de metilglioxal livre, um importante contribuinte da atividade antimicrobiana de méis, e característico desse tipo de mel principalmente, ocorrendo devido a reações de carbonilação com enzimas digestivas (DAGLIA et al., 2013).

Durante a digestão gástrica, o efeito deste sobre os compostos fenólicos parece ser dependente do tempo e condições de digestão, porém, estes são normalmente citados como estáveis em condições gástricas (ALMINGER et al., 2014; BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007; HELAL et al., 2014; TAGLIAZUCCHI et al., 2010). Em relação à etapa duodenal, a bioacessibilidade e estabilidade destes compostos parece

dependem do pH do meio e da matriz alimentar. Diferentes modificações e interações podem ocorrer durante esta etapa, podendo causar a oxidação de compostos fenólicos, precipitação de determinados compostos como flavononas, modificações estruturais, químicas e de solubilidade, interações com proteínas, enzimas digestivas, além de outros constituintes da matriz alimentar (ALMINGER et al., 2014; ARGYRI; KOMAITIS; KAPSOKEFALOU, 2006; BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007; FRIEDMAN; JÜRGENS, 2000; HELAL et al., 2014; ŚWIECA et al., 2013). Todos esses processos podem promover a diminuição da estabilidade e bioacessibilidade de certas classes de compostos fenólicos, como antocianinas, bem como o aumento ou alta taxa de recuperação de outras classes de compostos, a exemplo de isoflavonas (ALMINGER et al., 2014; ARGYRI; KOMAITIS; KAPSOKEFALOU, 2006; HELAL et al., 2014; SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). A bioacessibilidade de minerais também é afetada pelas condições do processo de digestão, bem como pela estrutura do mineral e pela própria composição da matriz alimentar, incluindo a presença de fibras, proteínas, quelantes, os quais podem ou não contribuir para a redução ou aumento da bioacessibilidade desta classe de compostos (BILUCA et al., 2017; ETCHEVERRY; GRUSAK; FLEIGE, 2012; POHL et al., 2012c), uma vez que o sistema gastrointestinal pode corroborar na liberação de compostos fenólicos e minerais do alimento, bem como na degradação e modificação destes e sua interação com outras substâncias (ALMINGER et al., 2014; ARGYRI; KOMAITIS; KAPSOKEFALOU, 2006; ETCHEVERRY; GRUSAK; FLEIGE, 2012; HELAL et al., 2014; POHL et al., 2012c; TAGLIAZUCCHI et al., 2010).

**CAPÍTULO 2 – Efeito da digestão gastrointestinal *in vitro* na bioacessibilidade de compostos fenólicos, minerais e capacidade antioxidante em mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham)**

Dados apresentados neste Capítulo fazem parte do artigo publicado no periódico Food Research International (DOI: 10.1016/j.foodres.2017.06.024)

## Resumo

O mel é um produto amplamente consumido devido ao seu poder adoçante e a possíveis efeitos terapêuticos promovidos por compostos com ação antioxidante. No entanto, estudos relacionados à avaliação do efeito da simulação da digestão gastrointestinal sobre estes compostos em méis são escassos na literatura, bem como em mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), para o qual não foram encontrados relatos até o presente momento. Neste contexto, a fim de contribuir com informações sobre esta temática, este estudo investigou o efeito da digestão *in vitro* sobre a capacidade antioxidante *in vitro*, compostos fenólicos individuais (usando cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas) e minerais (por eletroforese capilar com detector de arranjo de diodos) em méis de melato de bracatinga da região do planalto catarinense. Como resultados, o sistema digestivo simulado, especialmente a etapa de digestão duodenal, afetou negativamente a capacidade antioxidante deste mel, porém pode-se considerar que este decréscimo foi inferior a 30 % após a digestão *in vitro*. Em contraste com o comportamento citado acima, os compostos fenólicos individuais e minerais investigados neste estudo apresentaram estabilidade ao longo da simulação da digestão, inclusive após a digestão duodenal, resultando em frações bioacessíveis variando de 78,2 a 206,5 % para os compostos fenólicos individuais e 94,8 a 220,5 % para os minerais. Portanto, estes constituintes do mel de melato de bracatinga podem ser considerados bioacessíveis e potencialmente biodisponíveis. Ainda, a correlação entre a capacidade antioxidante e compostos fenólicos e minerais sugere que outras classes de compostos do mel também podem afetar a capacidade antioxidante desta matriz. Desta forma, o mel de melato de bracatinga pode ser destacado como um alimento que contém compostos fenólicos e minerais bioacessíveis, mantendo uma capacidade antioxidante satisfatória. Ainda, este estudo relata pela primeira vez a bioacessibilidade de compostos fenólicos individuais em méis, bem como a capacidade antioxidante e o teor de minerais e compostos fenólicos individuais ao longo da digestão *in vitro* em méis de melato de bracatinga.

## 1 Introdução

A produção acumulativa de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio por via endógena ou exógena no corpo pode promover um aumento na concentração de radicais livres, resultando em estresse oxidativo (PISOSCHI; POP, 2015; VALKO et al., 2006). Este processo tem sido fortemente relacionado com a ocorrência de diversas doenças crônicas e degenerativas como Alzheimer, aterosclerose, inflamação vascular, hipertensão, e diabetes (CERIELLO; TESTA; GENOVESE, 2016; PRASAD, 2016; SHANG et al., 2015; SITI; KAMISAH; KAMSIAH, 2015). A prevenção dos danos causados pelo estresse oxidativo ocorre por meio da eliminação ou estabilização de radicais livres pela ação de compostos com propriedades antioxidantes, a exemplo dos compostos fenólicos, vitaminas, enzimas, e minerais (FINKEL; HOLBROOK, 2000; PISOSCHI; POP, 2015; YOUNG; WOODSIDE, 2001). Os compostos antioxidantes podem atuar por meio de diferentes mecanismos, dentre os quais a desativação de radicais e formação de produtos não reativos; e a quelação de metais (SITI; KAMISAH; KAMSIAH, 2015; YOUNG; WOODSIDE, 2001).

Além de ser reconhecido por suas propriedades antibacteriana e anti-inflamatória, o mel é amplamente estudado por suas propriedades antioxidantes e que atuam na promoção de diversos efeitos benéficos à saúde de seus consumidores (BUENO-COSTA et al., 2016; DAS et al., 2015; KASSIM et al., 2012; LIU et al., 2013). Estudos *in vitro* e clínicos com diversos tipos de méis indicam seu potencial de uso no tratamento de feridas e queimaduras na pele (CHAUDHARY et al., 2019; IACOPETTI et al., 2020; MCLOONE; WARNOCK; FYFE, 2016; ORYAN; ALEMZADEH; MOHAMMADI, 2019; ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2016); de enfermidades do sistema gastrointestinal (NASUTI et al., 2006) e cardiovascular (AB WAHAB et al., 2018); e de úlceras em membros inferiores, por exemplo (MAYER et al., 2014). Esses mesmos estudos comprovam que as propriedades benéficas atribuídas ao mel estão fortemente relacionadas à presença de compostos bioativos em sua composição, com destaque para compostos fenólicos e minerais (AL-WAILI, 2003; ESCUREDO et al., 2013).

Estudos que contemplem o processo de digestão *in vitro* e seus efeitos no perfil dos compostos bioativos demonstra ser uma importante ferramenta na aquisição de conhecimento acerca da influência exercida tanto por esse sistema complexo (digestivo) quanto pela própria matriz alimentar e que estão diretamente relacionados à absorção de uma determinada substância (ou conjunto de substâncias) ou na potencialidade do mesmo ser absorvido (CORREA-BETANZO et al., 2014; MOSELE et al., 2015; TAGLIAZUCCHI et al., 2010).

Avaliar e conhecer estes efeitos demonstra significativa importância, uma vez que apenas substâncias não degradadas durante o processo de digestão gastrointestinal (bioacessibilidade) podem estar disponíveis para posterior absorção, especialmente no sistema intestinal, e promoção da ação biológica (biodisponibilidade) (PINACHO et al., 2015; WOOTTON-BEARD; MORAN; RYAN, 2011). Neste sentido, são ainda escassos estudos científicos publicados que sejam voltados à avaliação da bioacessibilidade *in vitro* de diversas substâncias bioativas presentes em méis (BILUCA et al., 2017; DAGLIA et al., 2013; O’SULLIVAN et al., 2013; POHL et al., 2012c).

O mel é um produto produzido por abelhas *Apis mellifera* o qual pode ser oriundo do néctar de flores, chamado de mel floral, ou então de secreções de partes vivas de plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas, chamado de mel de melato (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002). O mel de melato é normalmente diferenciado de méis florais por apresentar valores elevados de pH, condutividade elétrica, teor de oligossacarídeos, proteínas, e cinzas, e concentrações reduzidas de monossacarídeos, além de exibir uma coloração escura e características sensoriais diferenciadas (BOGDANOV; RUOFF; PERSANO-ODDO, 2004; ESCUREDO et al., 2013; MATEO; BOSCH-REIG, 1998). Ainda, méis escuros, incluindo o mel de melato, tendem a apresentar maiores concentrações de compostos fenólicos e minerais, bem como maior capacidade antioxidante quando comparados a méis florais que apresentem coloração clara (BERTONCELJ et al., 2007; CAN et al., 2015).

Especialmente no estado de Santa Catarina, Brasil, em períodos bianuais é observada a infestação de árvores de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) por insetos sugadores do gênero *Tachardiella* sp. ou *Stigmacoccus paranaensis* Foldi. Estes insetos utilizam o floema da bracatinga para a sua sobrevivência e excretam um exsudato açucarado, o qual é coletado pelas abelhas para a produção do mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth). A produção deste mel ocorre normalmente entre os meses de janeiro a junho, em anos pares, coincidindo com épocas de maior escassez de néctar e pólen, sendo crescente a sua valorização no mercado nacional, a exemplo do que já ocorre no cenário internacional (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015). No entanto, ainda são escassos os estudos relacionados à composição deste mel (AZEVEDO et al., 2017a, 2017b; BERGAMO et al., 2018, 2019a; SERAGLIO et al., 2016; SILVA et al., 2019a).

Nesse contexto, e a partir da demanda por estudos a respeito da composição fenólica, de minerais e da avaliação da capacidade antioxidante do mel de melato de bracatinga, bem como os efeitos causados pelo sistema de digestão *in vitro*, o objetivo deste estudo foi investigar o

efeito do processo de simulação da digestão gastrointestinal em relação à bioacessibilidade de compostos fenólicos individuais, minerais e capacidade antioxidante em mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) da região do planalto catarinense.

## 2 Materiais e métodos

### 2.1 Reagentes e soluções

Para todas as análises, água ultrapura (Milli-Q, Millipore, Bedford, Massachusetts, E.U.A.) e reagentes de grau analítico (pureza  $\geq 95\%$ ) foram empregados. Todas as soluções foram preparadas no dia das análises.

Para a avaliação da capacidade antioxidante *in vitro*, os reagentes radical DPPH, TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina), reagente Folin-Ciocalteu, metanol, carbonato de sódio e ácido clorídrico foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, E.U.A.). Ácido ascórbico, cloreto férrico, acetato de sódio, ácido gálico e sulfato ferroso heptahidratado foram obtidos da Vetec (Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil).

Para a determinação dos compostos fenólicos individuais, foram utilizados os padrões apigenina, isoramnetina, pinobanksina, ácido ferúlico, ácido benzoico, ácido sinápico, ácido *p*-aminobenzoico, ácido *p*-cumárico, 4-metilumbeliferona, ácido vanílico, rutina, naringina, (+)catequina, sinapaldeído, ácido cafeico, ácido clorogênico, coniferaldeído, siringaldeído, crisina, hesperidina, ácido siríngico, kaempferol, naringenina, (-)epigallocatequina galato, (-)epicatequina, pinocembrina, galangina e luteolina obtidos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, E.U.A.), ácido salicílico da Nuclear (Diadema, São Paulo, Brasil), quercetina da Fluka (Saint Gallen, Suíça), ácido gálico da Vetec (Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) e ácido 3,4-dihidroxibenzóico da Acros Organic (Geel, Bélgica). Metanol, acetonitrila e dimetilsulfóxido foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Hessen, Alemanha) e ácido fórmico da J. T. Baker (Phillipsburg, New Jersey, E.U.A.). Foram preparadas soluções padrões individuais na concentração de  $1000\text{ mg L}^{-1}$ , com exceção da isoramnetina ( $1250\text{ mg L}^{-1}$ ) e pinobanksina ( $1150\text{ mg L}^{-1}$ ), em dimetilsulfóxido ou metanol e estocadas a  $-20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Na determinação de minerais, os reagentes imidazol, ácido acético, ácido láctico, hidróxido de sódio e os minerais potássio (K), bário (Ba), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e manganês (Mn) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, E.U.A.).

Para a digestão *in vitro*, foram utilizadas as enzimas pancreatina (pâncreas suíno, P7545 - 207 unidades de protease  $\text{mg}^{-1}$  sólido; 238 unidades de  $\alpha$ -amilase  $\text{mg}^{-1}$  sólido; e 29,9 unidades

de lipase  $\text{mg}^{-1}$  sólido) e pepsina (mucosa gástrica suína, P7000 - 474 unidades  $\text{mg}^{-1}$  sólido), além dos sais biliares taurodeoxicolato de sódio hidratado (T0875), taurocolato de sódio hidratado (86339) e glicodeoxicolato de sódio (G9910) da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, E.U.A.). Os reagentes bicarbonato de sódio da Vetec (Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) e ácido clorídrico da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, E.U.A.) também foram utilizados.

## 2.2 Amostras

É importante ressaltar inicialmente que o grau de pureza das amostras, produção bianual e limitada ao primeiro semestre, produção limitada a localidades geográficas específicas e baixa disponibilidade do produto no mercado nacional, foram fatores determinantes e que dificultaram a aquisição de amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) para a realização desse estudo.

As amostras de mel de melato de bracatinga foram coletadas com o auxílio da EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina) por apicultores reconhecidos como produtores de mel de melato de bracatinga. As cidades em que as amostras foram coletadas foram Urupema ( $n=3$ ), Lages ( $n=3$ ) e Urubici ( $n=3$ ), todas no estado de Santa Catarina, Brasil. Após a coleta dos favos de mel, estes foram acondicionados em sacos plásticos e transportados em caixas isotérmicas a  $5 \pm 2$  °C até o Laboratório de Química de Alimentos, localizado no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os favos de mel foram drenados manualmente e o mel coletado em tubos de polipropileno com capacidade para 50 mL, sendo estes centrifugados a 1.338 g por 10 min (Fanem, modelo 280R, São Paulo, São Paulo, Brasil) para retirada de sedimentos. Logo após esses procedimentos as amostras foram armazenadas em temperatura de  $-20 \pm 2$  °C até o momento das análises (SERAGLIO et al., 2016).

Previamente às análises, as amostras de mel foram descongeladas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, e posteriormente homogeneizadas (por inversão). Diferentes misturas foram preparadas, cada uma consistindo das três amostras de mel de melato de bracatinga da mesma região geográfica e misturadas na mesma proporção, resultando em três diferentes misturas nomeadas ao longo do texto como: amostra de mel de melato de Urupema; amostra de mel de melato de Urubici; e amostra de mel de melato de Lages (SERAGLIO et al., 2016). Essa estratégia reproduz condições reais, onde méis são comumente disponibilizados comercialmente na forma de misturas.

### 2.2.1 Preparo das amostras

As amostras de mel foram homogeneizadas e submetidas à determinação da capacidade antioxidante *in vitro*, dos compostos fenólicos individuais e minerais previamente ao experimento de digestão *in vitro*, após a etapa de simulação da digestão gástrica e após a etapa correspondente à simulação da digestão duodenal.

Previamente à digestão *in vitro*, as amostras que seriam submetidas à avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* e dos compostos fenólicos individuais foram preparadas de acordo com Seraglio et al. (2016), a saber: para ambas as determinações todas as amostras foram diluídas na proporção 1:1 (m/v) em água, agitadas em vórtex por 40 s e em agitador orbital (Tecnal Equipamentos para Laboratório, São Paulo, Brasil) por 4 min para completa homogeneização; para a avaliação da composição fenólica, uma alíquota foi diluída na proporção 1:9 (v/v) em fase móvel (98% água, 2% acetonitrila adicionado de 0,1% ácido fórmico), logo após foi submetida à centrifugação (Thermo Fischer Scientific Inc., Massachusetts, E.U.A.) a 6.585 g por 20 min a  $4 \pm 0,2$  °C e o sobrenadante injetado em um sistema de cromatografia líquida (LC, do inglês, *liquid chromatography*) com fonte de ionização por eletronebulização (ESI, do inglês, *electrospray ionization*) e hifenado com espectrômetro de massas em tandem (MS/MS, do inglês, *mass spectrometry/mass spectrometry*). Para a avaliação da capacidade antioxidante, as amostras diluídas em água (originadas a partir das amostras e nas proporções descritas acima) e homogeneizadas foram centrifugadas a 6.585 g por 20 min a  $4 \pm 0,2$  °C e o sobrenadante utilizado para a determinação da capacidade antioxidante *in vitro*.

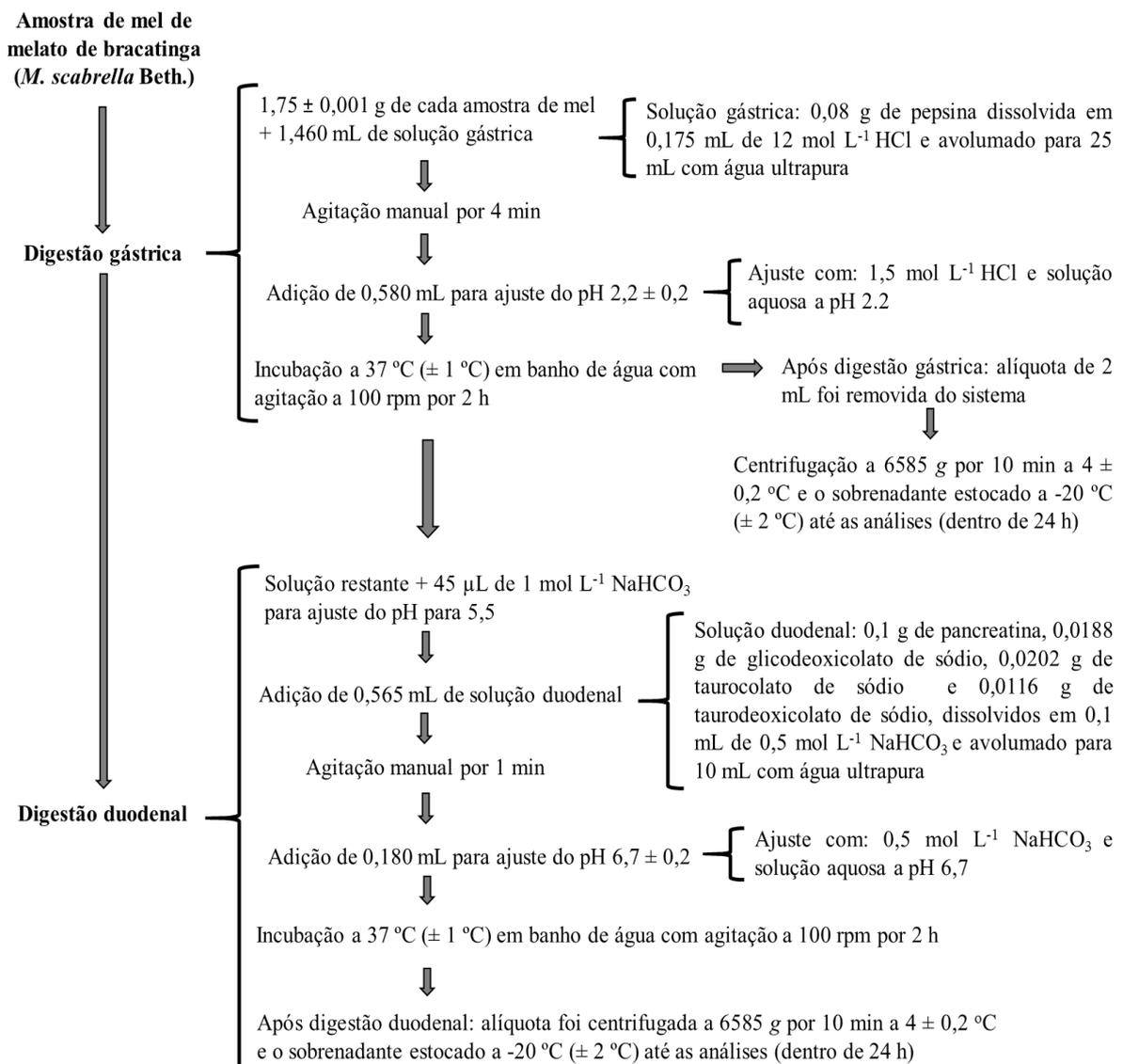
Para a determinação dos minerais, as amostras antes de serem submetidas à simulação da digestão *in vitro* foram preparadas de acordo com Rizelio et al. (2012a), com adaptações (SERAGLIO et al., 2017):  $0,6 \pm 0,001$  g de cada uma das amostras foram diluídas em balão volumétrico com capacidade para 2 mL e preenchido com água; a seguir foram homogeneizadas e centrifugadas a 6585 g por 5 min a  $4 \pm 0,2$  °C e o sobrenadante diluído na proporção de 9:1 (v/v) com padrão interno (Ba), este com concentração final de  $68,66 \text{ mg L}^{-1}$ , para injeção no sistema de eletroforese capilar (CE, do inglês, *capillary electrophoresis*) acoplado ao DAD.

Novas diluições das amostras foram realizadas de acordo com a necessidade e concentração dos compostos de interesse.

### 2.3 Procedimento de simulação da digestão gastrointestinal

O efeito da simulação da digestão gastrointestinal em relação à capacidade antioxidante *in vitro*, à composição fenólica e minerais das amostras de mel de melato de bracatinga foi avaliado a partir da aplicação de um modelo estático de digestão *in vitro* constituído por duas etapas sequenciais de digestão – gástrica e duodenal. O protocolo de digestão *in vitro* empregado foi adaptado a partir dos estudos publicados por Alminger et al. (2014), Egger et al. (2016), O’Sullivan et al. (2013) e United States Pharmacopeia (2000) e está apresentado na Figura 2.1.

Figura 2.1 – Fluxograma do procedimento de digestão *in vitro* aplicado às amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham)



Fonte: Adaptado de Seraglio et al. (2017).

A fim de conhecer a possível influência das soluções contendo os reagentes necessários para a simulação da digestão gastrointestinal nos métodos empregados para determinação da capacidade antioxidante, compostos fenólicos e minerais, uma amostra “branco” contendo apenas água ultrapura foi submetida ao mesmo procedimento de digestão *in vitro* das amostras. Esta foi analisada em todos os métodos e considerada nos resultados finais (SERAGLIO et al., 2017). De acordo com recomendações de alguns estudos (CARBONELL-CAPELLA et al., 2014; KOSIŃSKA-CAGNAZZO et al., 2015) que demonstraram a necessidade de interrupção da atividade enzimática, ao final de cada etapa de digestão *in vitro*, as amostras resultantes foram centrifugadas em temperatura baixa (4 °C) e congeladas imediatamente (-20 °C).

A fração bioacessível (FB) de cada composto fenólico e elemento mineral investigado em cada etapa da digestão *in vitro* foi avaliado de acordo com a Equação 1, sendo os valores expressos em percentagem (SERAGLIO et al., 2017).

$$FB (\%) = \frac{\text{concentração do composto na amostra após digestão gástrica ou duodenal}}{\text{concentração do composto na amostra não digerida}} \times 100 \quad (1)$$

## 2.4 Capacidade antioxidante *in vitro*

### 2.4.1 Capacidade antioxidante de redução do ferro (FRAP)

A habilidade de redução das amostras foi determinada de acordo com o método proposto por Benzie e Strain (1996), com modificações de Bertonecelj et al. (2007). Brevemente, o reagente FRAP foi preparado a partir da mistura, na seguinte ordem: tampão acetato de sódio 0,3 mol L<sup>-1</sup> (pH 3,6), solução de TPTZ (0,01 mol L<sup>-1</sup> em 0,04 mol L<sup>-1</sup> HCl) e solução de cloreto férrico 0,02 mol L<sup>-1</sup>, na proporção 10:1:1 (v/v/v), respectivamente. Uma alíquota de 400 µL de amostra com diluição conhecida foi misturada com 3,6 mL do reagente FRAP e incubado em banho a 37 °C (± 1) por 10 min. Após 10 minutos, a absorvância das amostras foram determinadas em 593 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Spectro Vision SB 1810-60 S, Beijing, China). Os resultados foram expressos em µmol de Fe<sup>+2</sup> por 100 g de mel a partir da interpolação da curva padrão construída com padrão de sulfato ferroso heptahidratado em sete níveis de concentração equidistante variando de 20 a 300 µmol L<sup>-1</sup>.

#### 2.4.2 Capacidade de desativação de radicais DPPH

A habilidade das amostras na desativação de radicais DPPH foi avaliada de acordo com o método proposto por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com modificações de Kim et al. (2002). A absorvância de uma alíquota de 2,9 mL de solução de radical DPPH ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  em metanol 80%, v/v) foi determinada em 515 nm ( $t=0 \text{ min}$ ) utilizando um espectrofotômetro UV-Vis. Na sequência, 100  $\mu\text{L}$  de amostra com diluição conhecida foi adicionada e o sistema homogeneizado e deixado ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 30 min. A absorvância após 30 min também foi obtida em 515 nm ( $t=30 \text{ min}$ ).

A capacidade das amostras em desativar os radicais DPPH foi descrita como percentagem de inibição (I %) de acordo com a Equação 2.

$$I \% = [1 - (\text{absorvância amostra}_{t=30\text{min}} \div \text{absorvância DPPH}_{t=0\text{min}}) \times 100] \quad (2)$$

Os valores foram expressos em mg equivalente a ácido ascórbico (EAA) em 100 g de mel pela interpolação com a curva padrão construída em seis níveis de concentração equidistantes variando de 20 a 120  $\text{mg L}^{-1}$ .

#### 2.4.3 Capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu (FC)

A capacidade redutora das amostras também foi determinada de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Brevemente, 2,0 mL de água ultrapura e 100  $\mu\text{L}$  de amostra com diluição conhecida foram adicionados em um balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, o reagente Folin-Ciocalteu (0,5 mL) foi adicionado ao sistema e após 2 minutos de reação foi adicionado 1,5 mL de solução de carbonato de sódio 20 % (m/v) e o restante do volume preenchido com água ultrapura. Este sistema foi mantido em ausência de luz e temperatura ambiente por 120 min, sendo a absorvância das amostras determinada em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 765 nm. Os resultados foram expressos em mg equivalente a ácido gálico (EAG) por 100 g de mel pela interpolação da curva analítica construída com padrão de ácido gálico em sete níveis de concentração equidistantes variando de 20 a 300  $\text{mg L}^{-1}$ .

## 2.5 Determinação de compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS

A determinação de compostos fenólicos nas misturas de mel de melato foi realizada de acordo com o método validado analiticamente para mel de melato de bracinga proposto por Seraglio et al. (2016).

As análises foram conduzidas em um LC Agilent 1290 (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemanha) acoplado a um espectrômetro de massas do tipo triploquadrupolar AB SCIEX QTRAP® 5500 System (Applied Biosystems, Concord, Califórnia, E.U.A.), equipado com uma fonte de ionização por ESI. A separação cromatográfica foi conduzida em uma coluna de fase reversa C18 Venusil XBP (100 mm comprimento, 2,1 mm diâmetro interno, 3 µm de tamanho da partícula, 150 Å de tamanho de poro) da Bonna-Agela Technologies (Wilmington, Delaware, E.U.A.). Um gradiente de fase móvel constituído por água acidificada com 0,1 % de ácido fórmico (F1) e de acetonitrila adicionada de 0,1 % de ácido fórmico (F2) foi programado da seguinte forma: 98 % F1 (v/v) de 0 – 4,0 min, 98 – 80 % F1 (v/v) de 4,0 – 7,0 min, 80 – 10 % F1 (v/v) de 7,0 – 14,0 min, 10 % F1 (v/v) de 14,0 – 15,0 min, 10 – 98 % F1 (v/v) de 15,0 – 17,0 min. Ainda, uma vazão de 300 µL min<sup>-1</sup>, volume de injeção de amostra de 5 µL, temperatura da coluna mantida em 30 °C e abertura de válvula de descarte até 1,9 min de corrida foram adotados (SERAGLIO et al., 2016).

A análise por espectrometria de massas foi conduzida simultaneamente em modo de ionização positivo e negativo configurado com os parâmetros: gás de interface: 25 psi; gás de colisão: alta; voltagem aplicada ao capilar: 5500 V; temperatura da fonte: 400 °C; vazão do gás de nebulização e secante: 55 psi. Os compostos fenólicos foram monitorados utilizando o monitoramento de reações múltiplas e a identificação foi realizada com base no tempo de retenção, íon precursor, fragmento principal (íon de quantificação) e fragmento secundário (íon de confirmação) por comparação com padrões analíticos. Os parâmetros operacionais otimizados do sistema de espectrometria de massas e os parâmetros de validação do método são apresentados no Anexo A e Anexo B, respectivamente. A aquisição e o tratamento dos dados foram realizados com o *software* Analyst versão 1.6.2 (SERAGLIO et al., 2016).

A concentração de cada composto fenólico encontrado nas amostras foi expressa em µg 100 g<sup>-1</sup> de mel.

## 2.6 Determinação de minerais por CE-DAD

A determinação de cátions nas amostras de mel de melato foi realizada de acordo com o método proposto por Rizelio et al. (2012a), com algumas modificações (SERAGLIO et al., 2017). As análises foram conduzidas em um sistema de CE Agilent 7100 (Agilent Technologies, Alemanha) acoplado ao DAD. Capilar de sílica fundida (Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, E.U.A.) de comprimento total de 48,5 cm (40 cm comprimento efetivo e 75  $\mu\text{m}$  diâmetro interno) foi utilizado. Previamente às análises, o capilar foi condicionado com NaOH 1 mol L<sup>-1</sup> por 20 min seguido de água ultrapura por 20 min e solução de eletrólito de corrida (BGE, do inglês, *background electrolyte*) por 20 min. Entre as corridas, o capilar foi recondicionado por 2 min com solução de BGE. A solução de BGE foi constituída por 30 mmol L<sup>-1</sup> de imidazol, 300 mmol L<sup>-1</sup> de ácido acético e 140 mmol L<sup>-1</sup> de ácido láctico (pH 3,0). As amostras e padrões foram introduzidas hidrodinamicamente no sistema de CE (50 mbar por 3 s) pela extremidade mais longa do capilar (*inlet*) e polaridade positiva (tensão de 15 kV) foi aplicada. A detecção dos analitos foi realizada utilizando o modo indireto, em 215 nm com referência em 450 nm. O sistema foi mantido em temperatura de 20 °C. A aquisição e tratamento dos dados foi realizado através de *software* HP ChemStation, rev. A.06.01.

A quantificação dos minerais foi realizada a partir de interpolação com curva analítica construída em seis níveis de concentração equidistantes variando de: 117 a 586 mg L<sup>-1</sup> para potássio; 2,00 a 60,1 mg L<sup>-1</sup> para cálcio; 1,21 a 18,2 mg L<sup>-1</sup> para magnésio; e 0,550 a 5,50 mg L<sup>-1</sup> para manganês. Os resultados para K, Ca, Mg e Mn encontrados nas amostras foram expressos em mg kg<sup>-1</sup> de mel.

## 2.7 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão de experimentos independentes ( $n=3$ ).

Inicialmente, a avaliação da homogeneidade das variâncias foi verificada por meio do teste de Levene (LEVENE, 1960). Uma vez avaliada a premissa citada, a análise de variâncias foi aplicada e, quando verificada diferença significativa pelo F-teste, foi realizada a aplicação do teste de multicomparação de médias (teste de *Tukey*). Ainda, a análise de correlação de Pearson foi utilizada para investigar a possível existência de correlação significativa entre a capacidade antioxidante, compostos fenólicos e minerais. Diferenças entre as médias no nível de 5 % ( $p < 0,05$ ) foram consideradas significativas.

As análises foram realizadas com o auxílio do programa *Statistica 13.0* (licença adquirida pela UFSC) e Microsoft Excel 2010 com a extensão *Action 2.9* (acesso livre).

### 3 Resultados e discussão

#### 3.1 Compostos fenólicos individuais

Diferentes classes de compostos fenólicos (cumarinas, flavonoides, aldeídos derivados da lignina e ácidos fenólicos) foram investigadas nas amostras de mel de melato de bracatinga antes, durante e após a digestão *in vitro* (SERAGLIO et al., 2017). Os fenólicos ácido sinápico, ácido vanílico, (+)catequina, (-)epicatequina, (-)epigallocatequina galato, 4-metilumbeliferona, naringina e sinapaldeido não foram detectados (abaixo do limite de detecção), enquanto que a apigenina e o ácido *p*-aminobenzoico apresentaram-se abaixo do limite de quantificação para todas as amostras de mel não digeridas e após as etapas gástrica e duodenal de digestão *in vitro*. A crisina e galangina não foram detectadas nas amostras de mel de Urupema e Urubici e foram observadas abaixo do limite de quantificação para a amostra de mel de Lages, antes e ao longo da digestão *in vitro* (SERAGLIO et al., 2017).

Os compostos fenólicos quantificados nas misturas de mel de melato de bracatinga antes, durante e após a digestão *in vitro* estão apresentados na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 – Concentração ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) e fração bioacessível (%) de compostos fenólicos individuais das amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) antes, durante e após a digestão *in vitro* (continua)

| Composto fenólico                | Amostra de mel de melato de bracatinga |                  |                  |                  |                  |                     |                    |                  |                  |
|----------------------------------|--|------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------|--------------------|------------------|------------------|
|                                  | Urupema                                |                  |                  | Urubici          |                  |                     | Lages              |                  |                  |
|                                  | Não-digerido                           | Fase gástrica    | Fase duodenal    | Não-digerido     | Fase gástrica    | Fase duodenal       | Não-digerido       | Fase gástrica    | Fase duodenal    |
| <i>Flavonoides</i>               |  |                  |                  |                  |                  |                     |                    |                  |                  |
| Hesperidina                      | <LD                                    | <LD              | <LD              | $1,9 \pm 0,2^b$  | $1,6 \pm 0,1^b$  | $3,0 \pm 0,1^a$     | $18,1 \pm 1,1^b$   | $18,5 \pm 0,8^b$ | $21,9 \pm 1,9^a$ |
| FB                               | -                                      | nd               | nd               | -                | $86,5 \pm 6,3$   | $158,3 \pm 6,7$     | -                  | $102,3 \pm 4,7$  | $121,2 \pm 10,7$ |
| Isoramnetina                     | $10,6 \pm 0,4^a$                       | $8,2 \pm 0,1^b$  | $8,5 \pm 0,7^b$  | $8,7 \pm 0,3^a$  | $7,4 \pm 0,1^b$  | $8,5 \pm 0,9^{ab}$  | $10,5 \pm 0,7^a$   | $9,0 \pm 0,1^a$  | $10,5 \pm 1,6^a$ |
| FB                               | -                                      | $76,8 \pm 1,2$   | $80,2 \pm 6,8$   | -                | $84,4 \pm 1,6$   | $97,8 \pm 9,8$      | -                  | $85,8 \pm 0,8$   | $100,1 \pm 7,9$  |
| Kaempferol                       | $17,4 \pm 0,4^a$                       | $15,2 \pm 0,8^b$ | $13,6 \pm 0,9^b$ | $18,2 \pm 1,2^a$ | $14,8 \pm 0,8^a$ | $15,6 \pm 2,1^a$    | $18,4 \pm 0,7^a$   | $16,6 \pm 1,5^a$ | $15,8 \pm 2,2^a$ |
| FB                               | -                                      | $87,5 \pm 4,5$   | $78,5 \pm 5,5$   | -                | $81,7 \pm 4,3$   | $86,1 \pm 11,5$     | -                  | $90,3 \pm 8,2$   | $86,3 \pm 12,0$  |
| Luteolina                        | $9,7 \pm 1,0^a$                        | $8,6 \pm 0,6^a$  | $8,5 \pm 0,7^a$  | $8,7 \pm 1,4^a$  | $7,4 \pm 0,5^a$  | $7,3 \pm 1,1^a$     | $6,5 \pm 0,8^a$    | $6,8 \pm 0,2^a$  | $6,4 \pm 0,2^a$  |
| FB                               | -                                      | $88,0 \pm 6,2$   | $87,6 \pm 7,3$   | -                | $85,3 \pm 6,3$   | $84,0 \pm 12,6$     | -                  | $103,3 \pm 2,7$  | $98,3 \pm 2,8$   |
| Naringenina                      | $3,4 \pm 0,3^a$                        | $3,3 \pm 0,4^a$  | $3,2 \pm 0,6^a$  | $5,8 \pm 0,6^a$  | $5,1 \pm 0,1^a$  | $5,5 \pm 1,0^a$     | $1,8 \pm 0,2^{ab}$ | $1,7 \pm 0,2^b$  | $2,3 \pm 0,2^a$  |
| FB                               | -                                      | $96,0 \pm 10,7$  | $94,1 \pm 13,9$  | -                | $88,7 \pm 1,4$   | $96,0 \pm 4,1$      | -                  | $94,1 \pm 9,0$   | $127,1 \pm 13,5$ |
| Pinobanksina                     | $3,9 \pm 0,2^a$                        | $3,5 \pm 0,2^a$  | $3,6 \pm 0,5^a$  | $6,6 \pm 0,5^a$  | $6,3 \pm 0,6^a$  | $6,1 \pm 0,5^a$     | $2,9 \pm 0,4^a$    | $2,3 \pm 0,1^a$  | $2,9 \pm 0,2^a$  |
| FB                               | -                                      | $90,7 \pm 6,3$   | $94,0 \pm 12,7$  | -                | $94,3 \pm 8,8$   | $91,4 \pm 7,2$      | -                  | $81,2 \pm 2,2$   | $99,9 \pm 8,1$   |
| Pinocembrina                     | <LD                                    | <LD              | <LD              | <LD              | <LD              | <LD                 | $3,0 \pm 0,0^a$    | $3,4 \pm 0,3^a$  | $3,2 \pm 0,1^a$  |
| FB                               | -                                      | nd               | nd               | -                | nd               | nd                  | -                  | $112,4 \pm 10,4$ | $105,1 \pm 3,9$  |
| Quercetina                       | $16,5 \pm 0,9^a$                       | $13,1 \pm 1,2^a$ | $14,0 \pm 1,9^a$ | $26,2 \pm 0,9^a$ | $21,5 \pm 0,7^b$ | $23,4 \pm 2,9^{ab}$ | $49,0 \pm 1,7^a$   | $45,4 \pm 3,5^a$ | $50,0 \pm 1,2^a$ |
| FB                               | -                                      | $79,6 \pm 2,1$   | $85,1 \pm 1,9$   | -                | $82,1 \pm 1,3$   | $89,1 \pm 1,7$      | -                  | $92,6 \pm 7,2$   | $102,2 \pm 2,4$  |
| Rutina/<br>composto desconhecido | $9,9 \pm 0,7^a$                        | $9,9 \pm 0,3^a$  | $10,6 \pm 0,6^a$ | $9,6 \pm 0,8^a$  | $9,7 \pm 0,4^a$  | $10,3 \pm 0,8^a$    | $38,2 \pm 0,5^b$   | $36,7 \pm 2,2^b$ | $42,3 \pm 1,3^a$ |
| FB                               | -                                      | $100,0 \pm 3,0$  | $106,3 \pm 6,3$  | -                | $101,2 \pm 4,4$  | $106,7 \pm 7,9$     | -                  | $96,0 \pm 5,7$   | $110,8 \pm 3,4$  |

Tabela 2.1 – Concentração ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) e fração bioacessível (%) de compostos fenólicos individuais das amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) antes, durante e após a digestão *in vitro* (continuação)

| Composto fenólico                    | Amostra de mel de melato de bracatinga |                           |                           |                          |                          |                           |                             |                             |                              |
|--------------------------------------|--|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
|                                      | Urupema                                |                           |                           | Urubici                  |                          |                           | Lages                       |                             |                              |
|                                      | Não-digerido                           | Fase gástrica             | Fase duodenal             | Não-digerido             | Fase gástrica            | Fase duodenal             | Não-digerido                | Fase gástrica               | Fase duodenal                |
| <i>Aldeídos derivados da lignina</i> |  |                           |                           |                          |                          |                           |                             |                             |                              |
| Coniferaldeído                       | 9,0 ± 1,3 <sup>a</sup>                 | 10,0 ± 1,7 <sup>a</sup>   | 12,3 ± 0,9 <sup>a</sup>   | <LQ                      | <LQ                      | <LQ                       | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                          |
| FB                                   | -                                      | 110,2 ± 9,2               | 136,3 ± 9,7               | -                        | nd                       | nd                        | -                           | nd                          | nd                           |
| Siringaldeído                        | <LQ                                    | <LQ                       | <LQ                       | <LQ                      | <LQ                      | <LQ                       | 2,8 ± 0,4 <sup>b</sup>      | 2,9 ± 0,1 <sup>b</sup>      | 4,9 ± 0,2 <sup>a</sup>       |
| FB                                   | -                                      | nd                        | nd                        | -                        | nd                       | nd                        | -                           | 103,9 ± 3,9                 | 174,4 ± 6,8                  |
| <i>Ácidos fenólicos</i>              |  |                           |                           |                          |                          |                           |                             |                             |                              |
| Ácido benzoico                       | 118,1 ± 17,2 <sup>b</sup>              | 114,6 ± 13,4 <sup>b</sup> | 225,8 ± 29,5 <sup>a</sup> | 184,8 ± 6,3 <sup>b</sup> | 182,2 ± 6,7 <sup>b</sup> | 381,6 ± 51,8 <sup>a</sup> | 1.105,1 ± 39,0 <sup>b</sup> | 1.021,2 ± 38,7 <sup>b</sup> | 1.932,2 ± 100,9 <sup>a</sup> |
| FB                                   | -                                      | 97,0 ± 3,7                | 191,2 ± 16,4              | -                        | 98,6 ± 5,3               | 206,5 ± 15,6              | -                           | 92,4 ± 6,1                  | 174,8 ± 13,8                 |
| Ácido cafeico                        | 20,4 ± 0,6 <sup>a</sup>                | 17,8 ± 0,8 <sup>b</sup>   | 16,0 ± 1,3 <sup>b</sup>   | 36,44 ± 1,2 <sup>a</sup> | 32,3 ± 1,1 <sup>b</sup>  | 37,1 ± 0,9 <sup>a</sup>   | 22,3 ± 1,3 <sup>a</sup>     | 20,6 ± 1,1 <sup>a</sup>     | 18,9 ± 2,6 <sup>a</sup>      |
| FB                                   | -                                      | 87,0 ± 4,1                | 78,2 ± 6,4                | -                        | 88,8 ± 3,0               | 102,0 ± 2,4               | -                           | 92,7 ± 5,0                  | 84,9 ± 11,5                  |
| Ácido clorogênico                    | 36,1 ± 2,0 <sup>a</sup>                | 35,8 ± 0,7 <sup>a</sup>   | 38,8 ± 1,2 <sup>a</sup>   | 19,0 ± 1,7 <sup>a</sup>  | 15,9 ± 0,5 <sup>a</sup>  | 20,0 ± 1,3 <sup>a</sup>   | 42,5 ± 1,6 <sup>a</sup>     | 39,5 ± 1,9 <sup>a</sup>     | 43,4 ± 1,9 <sup>a</sup>      |
| FB                                   | -                                      | 99,4 ± 1,9                | 107,6 ± 3,4               | -                        | 83,8 ± 2,4               | 105,3 ± 7,6               | -                           | 92,9 ± 4,5                  | 102,0 ± 4,4                  |
| Ácido <i>p</i> -cumárico             | 38,2 ± 1,0 <sup>a</sup>                | 31,2 ± 1,0 <sup>c</sup>   | 34,9 ± 1,5 <sup>b</sup>   | 41,8 ± 1,1 <sup>b</sup>  | 37,1 ± 1,0 <sup>c</sup>  | 45,9 ± 0,8 <sup>a</sup>   | 36,3 ± 1,4 <sup>a</sup>     | 29,8 ± 0,8 <sup>a</sup>     | 34,4 ± 4,8 <sup>a</sup>      |
| FB                                   | -                                      | 81,6 ± 2,5                | 91,2 ± 3,9                | -                        | 89,0 ± 2,3               | 110,0 ± 2,0               | -                           | 81,9 ± 2,1                  | 94,7 ± 13,3                  |
| Ácido 3,4-dihidroxibenzoico          | 128,5 ± 2,0 <sup>b</sup>               | 118,4 ± 0,3 <sup>c</sup>  | 143,0 ± 3,2 <sup>a</sup>  | 135,0 ± 4,0 <sup>b</sup> | 120,6 ± 4,2 <sup>c</sup> | 164,5 ± 6,6 <sup>a</sup>  | 177,9 ± 5,7 <sup>ab</sup>   | 160,7 ± 3,0 <sup>b</sup>    | 200,8 ± 17,2 <sup>a</sup>    |
| FB                                   | -                                      | 92,1 ± 0,2                | 111,3 ± 2,5               | -                        | 89,3 ± 3,1               | 121,9 ± 4,9               | -                           | 90,3 ± 1,7                  | 112,9 ± 9,7                  |
| Ácido ferúlico                       | 28,9 ± 2,2 <sup>a</sup>                | 25,0 ± 1,5 <sup>a</sup>   | 28,8 ± 1,3 <sup>a</sup>   | 23,2 ± 0,4 <sup>b</sup>  | 21,9 ± 0,9 <sup>b</sup>  | 26,4 ± 1,1 <sup>a</sup>   | 27,0 ± 0,6 <sup>a</sup>     | 25,6 ± 0,3 <sup>a</sup>     | 21,9 ± 3,7 <sup>a</sup>      |
| FB                                   | -                                      | 86,4 ± 5,0                | 99,7 ± 4,5                | -                        | 94,4 ± 3,7               | 113,6 ± 4,8               | -                           | 95,0 ± 1,3                  | 81,3 ± 3,7                   |

Tabela 2.1 – Concentração ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) e fração bioacessível (%) de compostos fenólicos individuais das amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) antes, durante e após a digestão *in vitro* (conclusão)

| Composto<br>fenólico      | Amostra de mel de melato de bracatinga |                         |                         |                           |                          |                          |                           |                          |                           |
|---------------------------|--|-------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                           | Urupema                                |                         |                         | Urubici                   |                          |                          | Lages                     |                          |                           |
|                           | Não-digerido                           | Fase gástrica           | Fase duodenal           | Não-digerido              | Fase gástrica            | Fase duodenal            | Não-digerido              | Fase gástrica            | Fase duodenal             |
| Ácido gálico              | 28,2 ± 1,8 <sup>a</sup>                | 26,3 ± 0,9 <sup>a</sup> | 28,9 ± 0,5 <sup>a</sup> | 33,5 ± 0,1 <sup>ab</sup>  | 31,6 ± 0,9 <sup>b</sup>  | 35,6 ± 1,7 <sup>a</sup>  | 35,3 ± 1,1 <sup>a</sup>   | 32,7 ± 1,5 <sup>a</sup>  | 35,1 ± 1,5 <sup>a</sup>   |
| FB                        | -                                      | 93,4 ± 3,3              | 102,3 ± 1,7             | -                         | 94,2 ± 2,6               | 106,1 ± 5,1              | -                         | 92,6 ± 4,3               | 99,4 ± 4,3                |
| Ácido salicílico          | 81,9 ± 1,1 <sup>b</sup>                | 70,2 ± 1,5 <sup>c</sup> | 90,2 ± 1,9 <sup>a</sup> | 109,5 ± 4,0 <sup>ab</sup> | 100,5 ± 2,2 <sup>b</sup> | 120,2 ± 5,8 <sup>a</sup> | 201,8 ± 6,5 <sup>ab</sup> | 188,6 ± 5,2 <sup>b</sup> | 220,4 ± 11,7 <sup>a</sup> |
| FB                        | -                                      | 85,7 ± 1,8              | 110,2 ± 2,4             | -                         | 91,7 ± 2,0               | 109,7 ± 5,3              | -                         | 93,5 ± 2,6               | 109,2 ± 2,0               |
| Ácido siríngico           | 14,9 ± 1,0 <sup>a</sup>                | 12,5 ± 0,5 <sup>a</sup> | 16,0 ± 2,7 <sup>a</sup> | 35,3 ± 0,5 <sup>ab</sup>  | 33,4 ± 0,7 <sup>b</sup>  | 40,6 ± 4,5 <sup>a</sup>  | 51,1 ± 5,2 <sup>a</sup>   | 42,3 ± 1,8 <sup>a</sup>  | 46,6 ± 3,3 <sup>a</sup>   |
| FB                        | -                                      | 83,6 ± 3,5              | 107,1 ± 6,2             | -                         | 94,4 ± 1,9               | 114,7 ± 12,8             | -                         | 82,8 ± 3,6               | 91,3 ± 6,5                |
| <i>Soma dos compostos</i> | 575,7                                  | 523,5                   | 696,8                   | 704,4                     | 649,5                    | 951,6                    | 1.850,4                   | 1.704,2                  | 2.713,3                   |

Legenda: Resultados expressos como média ± desvio padrão;  $n = 3$ ; <sup>a-c</sup> diferentes letras subscritas na mesma linha, para cada amostra, representam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de *Tukey*; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; FB – fração bioacessível; (-) – não aplicável; nd – não determinado.

Fonte: Adaptado de Seraglio et al. (2017).

De acordo com a Tabela 2.1, a classe que se destacou pelas maiores concentrações foi a dos ácidos fenólicos sendo os ácidos benzoico, 3,4-dihidroxibenzoico (ácido protocatecuico) e salicílico os compostos fenólicos mais abundantes nas amostras de mel de melato de bracinga avaliadas, tanto antes quanto após a digestão gástrica e duodenal (SERAGLIO et al., 2017).

Para as amostras de mel não digeridas, o ácido benzoico apresentou concentração que variou de  $118,1 \pm 17,21$  a  $1.105 \pm 39,01 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ; o ácido 3,4-dihidrobenzoico de  $128,5 \pm 2,0$  a  $177,9 \pm 5,7 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ; e o ácido salicílico de  $81,9 \pm 1,1$  a  $201,2 \pm 5,8 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  (Tabela 2.1) (SERAGLIO et al., 2017). Estes compostos também foram relatados entre os compostos fenólicos majoritários encontrados em diferentes méis de melato, como de *Abies alba*, *Quercus* spp. e de árvores coníferas e latifoliadas, com concentrações variando de 93,3 a 305,9  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  para o ácido benzoico e de 71,2 a 705,9  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  para o ácido salicílico (DAHER; GÜLAÇAR, 2008), e de *Pinus* L. e *Quercus robur* com teores variando de 8.119,0 a 74.460,0  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  para o ácido 3,4-dihidroxibenzoico (CAN et al., 2015). Resultados similares aos deste estudo foram encontrados em méis de melato da Polônia (SOCHA et al., 2011), de *Pinus* spp. (HAROUN et al., 2012b; SILICI; SARIOGLU; KARAMAN, 2013) e *Quercus* (HAROUN et al., 2012b) para diferentes compostos fenólicos, incluindo o ácido cafeico (não detectado a 94,1  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ), ácido ferúlico (não detectado a 24,0  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ), quercetina (não detectado a 65,7  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ), pinocembrina (não detectado a 17,7  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ), kaempferol (não detectado a 17,6  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) e apigenina (não detectado a 16,7  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ).

Após a digestão gástrica, comparativamente às concentrações iniciais, o teor de seis compostos fenólicos (ácidos cafeico, *p*-cumárico, 3,4-dihidroxibenzoico e salicílico, isoramnetina e kaempferol) diminuiu significativamente na amostra de mel de melato de Urupema. Este mesmo comportamento foi verificado para cinco compostos fenólicos (ácidos cafeico, *p*-cumárico e 3,4-dihidroxibenzoico, isoramnetina e quercetina) observados na amostra de mel de melato de Urubici. Apenas para a mistura de mel melato de Lages não foram verificadas mudanças significativas (Tabela 2.1) (SERAGLIO et al., 2017).

No entanto, após a fase de digestão duodenal, foi observado um aumento significativo na concentração de quatro compostos fenólicos presentes na amostra de mel de Urupema (ácidos benzoico, *p*-cumárico, 3,4-dihidroxibenzoico e salicílico); de oito compostos fenólicos na amostra de mel de Urubici (hesperidina e ácidos benzoico, *p*-cumárico, 3,4-dihidroxibenzoico, salicílico, ferúlico, gálico e siríngico); e de sete compostos fenólicos na amostra de mel de Lages (ácidos benzoico, 3,4-dihidroxibenzoico e salicílico, hesperidina, naringenina, rutina/composto desconhecido e siringaldeído), todos comparados aos teores encontrados na etapa gástrica (Tabela 2.1) (SERAGLIO et al., 2017). Adicionalmente, em

comparação às concentrações iniciais (amostras não digeridas), os teores de três compostos fenólicos (ácidos benzoico, 3,4-dihidroxibenzoico e salicílico) encontrados na amostra de mel de Urupema aumentaram de forma significativa, enquanto outros quatro (ácidos cafeico e *p*-cumárico, isoramnetina e kaempferol) reduziram a concentração notavelmente. A amostra de mel de melato de Urubici apresentou um aumento significativo na concentração de cinco compostos fenólicos (hesperidina e ácidos benzoico, *p*-cumárico, 3,4-dihidroxibenzoico e ferúlico), sendo que foi observado o mesmo comportamento na amostra de mel de bracatinga de Lages para outros quatro compostos fenólicos (ácido benzoico, hesperidina, rutina/composto desconhecido e siringaldeído) (Tabela 2.1) (SERAGLIO et al., 2017). Contudo, é possível considerar que a maioria dos compostos fenólicos presentes nas amostras de mel de melato de bracatinga das cidades de Urubici, Urupema e Lages apresentaram estabilidade satisfatória durante todo o processo de digestão *in vitro*, inclusive após a etapa de digestão duodenal. Como consequência, a fração bioacessível destes compostos individuais após a etapa gástrica variou de  $76,8 \pm 1,2$  a  $112,4 \pm 10,4\%$  e de  $78,2 \pm 6,4$  a  $206,5 \pm 15,6\%$  após a etapa duodenal (Tabela 2.1), sugerindo, portanto, que os compostos fenólicos desta matriz são bioacessíveis (SERAGLIO et al., 2017).

A matriz alimentar pode desempenhar um importante papel na estabilidade de compostos fenólicos durante o processo digestivo, isto porque podem ocorrer interações entre compostos fenólicos e outros constituintes da dieta, tais como minerais e proteínas (ARGYRI; KOMAITIS; KAPSOKEFALOU, 2006), resultando em uma possível proteção contra processos de degradação (BOBRICH et al., 2014). Além disso, a estabilidade de alguns compostos fenólicos em condições ácidas/gástricas e alcalinas/duodenais já foi reportado para padrões comerciais, incluindo catequina, quercetina, ácido ferúlico e rutina (FRIEDMAN; JÜRGENS, 2000; TAGLIAZUCCHI et al., 2010). A conversão de compostos fenólicos em compostos conhecidos ou não, pode ser induzido pelas condições de digestão e estar relacionado com o aumento da concentração de compostos fenólicos durante o processo de digestão (BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007; SCHULZ et al., 2017). Ainda, a ação do sistema de digestão pode contribuir na liberação desses compostos da matriz alimentar para o meio, o que pode também estar associado ao comportamento observado nesse estudo (CHEN et al., 2016).

Portanto, considerando a importância dos compostos fenólicos à saúde e a crescente valorização do mel de melato de bracatinga especialmente no cenário nacional, os resultados encontrados nesse estudo representam uma importante descoberta nesse campo do conhecimento.

### 3.2 Minerais

Os teores de minerais em méis estão fortemente relacionados às condições ambientais do meio, sendo a capacidade de absorção da planta e a composição do solo os principais fatores que afetam a composição mineral desses produtos. Nesse sentido, os minerais contribuem significativamente para a avaliação da autenticidade botânica e geográfica de méis, para a diferenciação entre méis florais e méis de melato, bem como no monitoramento de contaminações ambientais (CHUDZINSKA; BARALKIEWICZ, 2010; FERMO et al., 2013; PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008).

Apesar dos compostos fenólicos consistirem no grupo de constituintes mais investigados em méis e relacionados a efeitos benéficos à saúde, os minerais são também importantes micronutrientes presentes nesta matriz. Estes elementos estão envolvidos em diferentes funções biológicas (AL-WAILI, 2003; ESCUREDO et al., 2013), sendo essenciais como parte de enzimas com atividade biológica (POHL et al., 2012c), componentes estruturais de tecidos (ÖZCAN, 2004), além de apresentar função reguladora em determinados processos metabólicos (VAQUERO, 2002). Ainda, a correlação atribuída especialmente aos compostos fenólicos, mas também a outros constituintes do mel, como minerais, com a capacidade antioxidante são demonstradas em alguns estudos realizados com diferentes tipos de méis (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2012; ESCUREDO et al., 2013; SILICI; SAGDIC; EKICI, 2010).

Na Tabela 2.2 são apresentados os teores dos cátions encontrados nas amostras de mel de melato de bracinga antes, durante e após a simulação da digestão e a fração bioacessível correspondente.

Tabela 2.2 – Concentração dos cátions ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) e fração bioacessível (%) das amostras de mel de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham) antes, durante e após a digestão *in vitro* (continua)

| Amostra de mel de melato de bracinga | Fase de digestão | Concentração | K                               | Ca                        | Mg                        |
|--------------------------------------|------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Urupema                              | Não-digerido     | M            | 4.503,7 ± 143,7 <sup>a,A</sup>  | 13,0 ± 0,3 <sup>a,B</sup> | 47,1 ± 1,6 <sup>a,B</sup> |
|                                      |                  | FB           | -                               | -                         | -                         |
|                                      | Gástrica         | M            | 4.343,5 ± 78,5 <sup>a,AB</sup>  | 14,1 ± 0,4 <sup>a,A</sup> | 45,0 ± 1,1 <sup>a,A</sup> |
|                                      |                  | FB           | 96,4 ± 1,7                      | 108,4 ± 1,8               | 95,7 ± 2,4                |
|                                      | Duodenal         | M            | 4.378,6 ± 117,5 <sup>a,AB</sup> | 24,3 ± 0,7 <sup>b,B</sup> | 47,0 ± 2,1 <sup>a,A</sup> |
|                                      |                  | FB           | 97,2 ± 2,6                      | 187,0 ± 5,6               | 99,7 ± 4,5                |

Tabela 2.2 – Concentração dos cátions ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) e fração bioacessível (%) das amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) antes, durante e após a digestão *in vitro* (conclusão)

| Amostra de mel de melato de bracatinga | Fase de digestão | Concentração | K                         | Ca                   | Mg                   |
|--|------------------|--------------|---------------------------|----------------------|----------------------|
| Urubici                                | Não-digerido     | M            | $4.696,7 \pm 187,4^{a,A}$ | $11,5 \pm 0,8^{a,B}$ | $47,5 \pm 2,0^{a,B}$ |
|  |                  | FB           | -                         | -                    | -                    |
|  | Gástrica         | M            | $4.451,8 \pm 183,0^{a,B}$ | $12,4 \pm 0,6^{a,A}$ | $46,7 \pm 1,3^{a,A}$ |
|  |                  | FB           | $94,8 \pm 3,9$            | $107,6 \pm 5,1$      | $93,1 \pm 4,9$       |
|  | Duodenal         | M            | $4.415,1 \pm 91,0^{a,B}$  | $25,4 \pm 0,4^{b,A}$ | $50,2 \pm 1,3^{a,A}$ |
|  |                  | FB           | $94,0 \pm 8,3$            | $220,5 \pm 3,4$      | $100,0 \pm 9,7$      |
| Lages                                  | Não-digerido     | M            | $4.567,8 \pm 95,1^{a,A}$  | $28,1 \pm 1,7^{a,A}$ | $56,7 \pm 4,7^{a,A}$ |
|  |                  | FB           | -                         | -                    | -                    |
|  | Gástrica         | M            | $4.657,4 \pm 51,0^{a,A}$  | $29,9 \pm 1,5^{a,A}$ | $55,9 \pm 1,1^{a,A}$ |
|  |                  | FB           | $102,0 \pm 1,1$           | $106,2 \pm 5,4$      | $98,6 \pm 1,9$       |
|  | Duodenal         | M            | $5.148,5 \pm 135,0^{a,A}$ | $46,1 \pm 1,0^{b,C}$ | $61,8 \pm 1,0^{a,A}$ |
|  |                  | FB           | $112,7 \pm 2,9$           | $164,0 \pm 3,5$      | $108,9 \pm 1,8$      |

Legenda: Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão;  $n = 3$ ; <sup>a-c</sup> diferentes letras subscritas na mesma coluna, para cada amostra, representam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey; <sup>A-C</sup> diferentes letras subscritas na mesma coluna, para cada fase da digestão (dados normalizados), representam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey. M – mineral; FB – fração bioacessível; (-) – não aplicável; nd – não determinado; K – potássio; Ca – cálcio; Mg – magnésio.

Fonte: Adaptado de Seraglio et al. (2017).

Para as amostras não digeridas, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 2.2, o K foi o elemento predominante em todas as amostras de mel, variando de  $4.503,7 \pm 143,7$  a  $4.696,7 \pm 187,4 \text{ mg kg}^{-1}$ . O Mg ( $47,1 \pm 1,6$  a  $56,7 \pm 4,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) seguido pelo Ca ( $11,5 \pm 0,8$  a  $28,1 \pm 1,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) foram os demais elementos encontrados em maiores concentrações nas amostras de mel avaliadas, sendo que a amostra proveniente de Lages apresentou as maiores concentrações (SERAGLIO et al., 2017). O elemento K também foi encontrado em maior concentração em méis de melato procedentes da Espanha, Nova Zelândia e Polônia ( $2.397,0$ ;  $3.640$ ; e  $1.743,9$  a  $4.221,6 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente) (CHUDZINSKA; BARALKIEWICZ, 2010; ESCUREDO et al., 2013; VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011), porém com valores inferiores aos encontrados neste estudo. Além do K, o Ca e Mg também estavam entre os elementos majoritários encontrados em méis de melato da Nova Zelândia, Espanha e Polônia, com teores que variaram de menor que o limite de detecção a  $147,0 \text{ mg kg}^{-1}$  para o Ca e de  $1,48$  a  $213,0 \text{ mg kg}^{-1}$  para o Mg (CHUDZINSKA; BARALKIEWICZ, 2010; ESCUREDO et al., 2013; VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011).

Para todas as amostras de mel avaliadas, inclusive após a digestão gástrica e duodenal, o elemento Mn não foi detectado ( $< 0,27 \text{ mg L}^{-1}$ ) (SERAGLIO et al., 2017). Em outros estudos com comportamento semelhante foi verificado para este elemento, sendo que em mel de melato da Nova Zelândia foi observada a concentração de  $0,43 \text{ mg kg}^{-1}$  (VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011), enquanto que em méis de melato da Polônia, os teores variaram de  $2,70$  a  $7,37 \text{ mg kg}^{-1}$  (CHUDZINSKA; BARALKIEWICZ, 2010), e em méis de melato da Eslovênia o teor médio foi de  $4,5 \text{ mg kg}^{-1}$  (GOLOB et al., 2005). É importante comentar ainda a possibilidade da presença de outros minerais minoritários no mel de melato de bracatinga, os quais podem ser determinados por meio do uso de técnicas analíticas mais sensíveis que a EC, como por exemplo o ICP, técnica analítica muito empregada na determinação de minerais em méis de melato (SERAGLIO et al., 2019).

Comumente é possível observar que a composição mineral presente em méis de melato é maior em comparação aos méis florais, podendo chegar a concentrações em torno de  $0,3\%$ , enquanto que concentrações inferiores ou próximas a  $0,1\%$  são normalmente observadas em méis florais (ESCUREDO et al., 2013; FERMO et al., 2013; LACHMAN et al., 2007; VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011). Em comparação aos méis florais de acácia, lima (GOLOB et al., 2005), tomilho, trevo (VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011), eucalipto, urze, multifloral (ESCUREDO et al., 2013) e de diferentes origens botânicas e geográficas (FERMO et al., 2013), maiores concentrações, especialmente de K e Mg foram verificadas para o mel de melato de bracatinga (SERAGLIO et al., 2017).

Após a digestão gástrica, não foram observadas mudanças significativas na concentração dos minerais, resultando em uma fração bioacessível que variou de  $93,1 \pm 4,9$  a  $108,4 \pm 1,8\%$ ; este mesmo comportamento foi mantido para o K e Mg após a digestão duodenal, sendo que os mesmos não diferiram estatisticamente dos teores iniciais (pré digestão) e pós digestão gástrica. No entanto, em todas as amostras de mel de melato de bracatinga avaliadas neste estudo, houve um aumento significativo para o Ca após a digestão duodenal, em comparação com as concentrações iniciais (pré digestão) e pós digestão gástrica; sendo que a fração bioacessível nesta etapa da digestão variou de  $94,8 \pm 3,9$  a  $112,7 \pm 2,9\%$  para K e Mg, e de  $164,0 \pm 3,5$  a  $220,5 \pm 3,4\%$  para o Ca (SERAGLIO et al., 2017).

Pohl et al. (2012c) publicaram um estudo em que o objetivo foi avaliar a bioacessibilidade *in vitro* dos minerais cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês e zinco em méis comerciais de trigo sarraceno, urze e de melato de árvores coníferas e decíduas provenientes da Polônia. A técnica analítica utilizada foi com FAAS e a determinação dos analitos foi realizada apenas na etapa inicial (pré digestão *in vitro*) e final (pós digestão *in vitro*)

e posterior filtração em membrana ( $< 5$  kDa). Em concordância com os resultados verificados neste estudo, a fração bioacessível dos minerais investigados variou de 62,9 a 100,0%, mesmo estes estando limitados a fração solúvel e permeável à membrana. É importante ressaltar que, até o momento, apenas este estudo avaliou a bioacessibilidade *in vitro* de minerais em mel de melato e não foi investigado o efeito da digestão gástrica sobre essa classe de compostos, fato que foi avaliado no presente estudo em mel de melato de bracinga.

Em méis de abelhas sem ferrão (*Meliponinae*), o alumínio, bário, cálcio, cobalto, cobre, ferro, potássio, lítio, magnésio, manganês, níquel e zinco foram investigados por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado e AAS após o processo de simulação da digestão *in vitro*. A fração bioacessível destes minerais variou de 73,6 a 107,6% (BILUCA et al., 2017), em concordância com os resultados observados neste estudo. Portanto, este comportamento sugere que possivelmente os minerais (em sua maioria) estão presentes no mel como estruturas simples ou livres, e são facilmente solubilizados e disponíveis para absorção (POHL, 2009; POHL et al., 2012c). Entretanto, estruturas mais complexas também podem ocorrer em méis devido a complexação entre minerais e compostos orgânicos, tais como fenólicos e proteínas (BOGDANOV; RUOFF; PERSANO-ODDO, 2004; POHL et al., 2012c).

Perante o fato de os minerais serem de grande importância à saúde (COSTA-PINTO; GANTNER, 2020), os resultados encontrados neste estudo são de notável importância e sugerem que esses elementos majoritários presentes no mel de melato de bracinga são encontrados na forma livre ou passam a ser liberados após o processo de digestão *in vitro*, demonstrando, portanto, significativa bioacessibilidade (SERAGLIO et al., 2017).

### 3.3 Capacidade antioxidante *in vitro*

Compostos com propriedades antioxidantes podem apresentar diferentes comportamentos frente a distintos ensaios *in vitro* que avaliam a capacidade antioxidante. Sendo assim, é considerado importante e amplamente difundido o emprego de mais de um método para a avaliação da capacidade antioxidante (KAMILOGLU et al., 2015), uma vez que cada método fornece um resultado vinculado às condições experimentais e mecanismos de reação específicos de cada ensaio (MA et al., 2011).

A capacidade redutora frente ao íon ferro de uma amostra pode ser avaliada por meio do ensaio FRAP. Neste método, o mecanismo reacional envolvido é baseado na transferência de elétrons de compostos com capacidade de reduzir o complexo  $[\text{Fe(III)-(TPTZ)}_2]^{3+}$  em baixo pH (MAGALHÃES et al., 2008; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

O método de desativação de radicais livres DPPH emprega o radical orgânico nitrogenado DPPH, o qual é considerado estável e por este motivo amplamente empregado na avaliação da capacidade antioxidante de diversas matrizes (CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2012). Durante o procedimento reacional, o radical DPPH, de cor púrpura, é reduzido por substâncias redutoras à hidrazina ( $N_2H_4$ ), a qual apresenta coloração amarela (MAGALHÃES et al., 2008). O mecanismo reacional envolvido no ensaio DPPH é baseado na reação de doação de elétrons, permitindo assim a estabilização dos radicais livres DPPH. Este método é influenciado pelo solvente empregado e o pH do meio reacional (SHAHIDI; ZHONG, 2015).

O método de Folin-Ciocalteu tem como princípio a redução do reagente Folin-Ciocalteu, o qual contém complexos de ácido fosfomolibdico e fosfotúngstico, por substâncias fenólicas em meio alcali, sendo o mecanismo reacional envolvido baseado na transferência de elétrons. Por este motivo este método é amplamente empregado na determinação de compostos fenólicos totais em diversas matrizes alimentares, mas também está sendo explorado na avaliação da capacidade redutora de amostras, devido à capacidade de substâncias redutoras não fenólicas reagir no sistema reacional (SHAHIDI; ZHONG, 2015), incluindo vitaminas, metais, proteínas e tiols (EVERETTE et al., 2010).

Visto a importância da utilização de diferentes métodos, os ensaios FRAP, DPPH e FC foram empregados para a avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* em amostras de mel de melato de bracatinga. Na Tabela 2.3 são apresentados os resultados relacionados à capacidade antioxidante das amostras de mel de melato de bracatinga antes, durante e após a digestão *in vitro*.

Tabela 2.3 – Capacidade antioxidante das amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) antes, durante e após a digestão *in vitro*

| Amostra de mel de melato de bracatinga | Fase de digestão | FRAP ( $\mu\text{mol Fe}^{+2}$ 100 $\text{g}^{-1}$ ) | DPPH (mg AAE 100 $\text{g}^{-1}$ ) | FC (mg GAE 100 $\text{g}^{-1}$ ) |
|--|------------------|--|------------------------------------|----------------------------------|
| Urupema                                | Não-digerido     | 547,2 $\pm$ 22,3 <sup>a,B</sup>                      | 31,0 $\pm$ 0,3 <sup>a,B</sup>      | 109,6 $\pm$ 1,0 <sup>a,C</sup>   |
|  | Gástrica         | 572,8 $\pm$ 21,2 <sup>a,A</sup>                      | 17,4 $\pm$ 0,3 <sup>b,A</sup>      | 115,9 $\pm$ 2,7 <sup>a,B</sup>   |
|  | Duodenal         | 410,3 $\pm$ 18,3 <sup>b,B</sup>                      | 31,3 $\pm$ 0,4 <sup>a,A</sup>      | 81,3 $\pm$ 2,3 <sup>b,A</sup>    |
| Urubici                                | Não-digerido     | 620,1 $\pm$ 4,1 <sup>a,A</sup>                       | 38,1 $\pm$ 0,2 <sup>a,A</sup>      | 122,6 $\pm$ 1,3 <sup>b,B</sup>   |
|  | Gástrica         | 626,3 $\pm$ 23,5 <sup>a,A</sup>                      | 21,2 $\pm$ 2,5 <sup>c,A</sup>      | 144,4 $\pm$ 3,6 <sup>a,A</sup>   |
|  | Duodenal         | 559,4 $\pm$ 2,1 <sup>b,A</sup>                       | 33,9 $\pm$ 1,4 <sup>b,B</sup>      | 80,6 $\pm$ 3,8 <sup>c,B</sup>    |
| Lages                                  | Não-digerido     | 612,1 $\pm$ 8,3 <sup>ab,A</sup>                      | 38,3 $\pm$ 1,2 <sup>a,A</sup>      | 142,0 $\pm$ 1,6 <sup>a,A</sup>   |
|  | Gástrica         | 661,9 $\pm$ 29,8 <sup>a,A</sup>                      | 19,2 $\pm$ 0,6 <sup>c,A</sup>      | 119,7 $\pm$ 2,5 <sup>b,C</sup>   |
|  | Duodenal         | 564,7 $\pm$ 8,4 <sup>b,A</sup>                       | 30,1 $\pm$ 0,8 <sup>b,C</sup>      | 58,3 $\pm$ 2,6 <sup>c,C</sup>    |

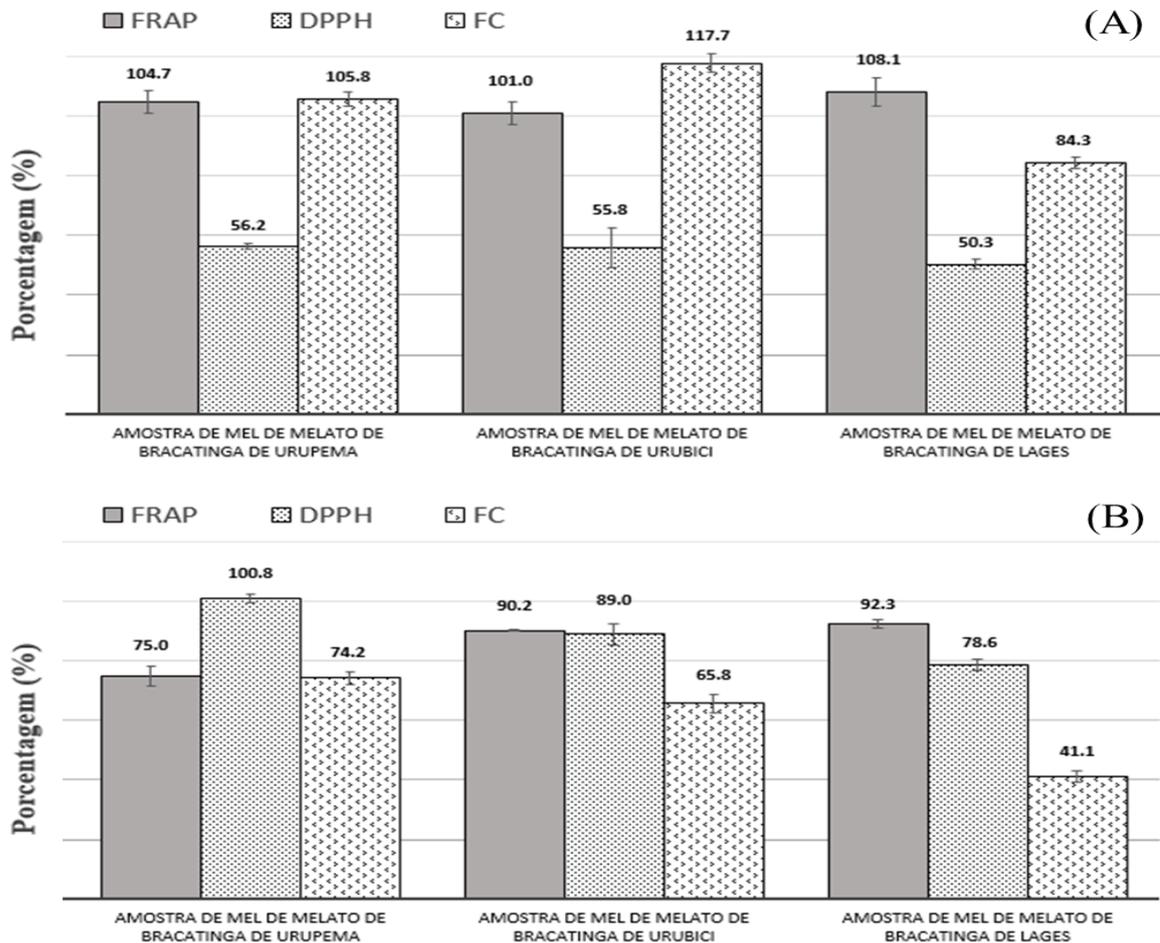
Legenda: Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão;  $n = 3$ ; <sup>a-c</sup> diferentes letras subscritas na mesma coluna, para cada amostra, representam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de *Tukey*; <sup>A-C</sup> diferentes letras subscritas na mesma coluna, para cada fase da digestão (dados normalizados), representam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de *Tukey*; EAA – equivalente a ácido ascórbico; EAG – equivalente a ácido gálico; capacidade antioxidante de redução do ferro – FRAP, do inglês, *ferric reducing antioxidant power*; 2,2-difenil-1-picrilhidrazila – DPPH, do inglês, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*; FC – capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu.

**Fonte:** Adaptado de Seraglio et al. (2017).

De acordo com a Tabela 2.3, para as amostras de mel não digeridas, os maiores valores observados para o ensaio FRAP foram verificados para as amostras de mel de Urubici e Lages ( $620,1 \pm 4,1$  e  $612,1 \pm 8,3 \mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$ , respectivamente) (SERAGLIO et al., 2017). Estes resultados foram superiores aos encontrados em méis de melato de *Pinus L.* e *Quercus robur* ( $148$  a  $307 \mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$ ) (CAN et al., 2015), mas inferiores aos reportados em méis de melato de *Quercus frainetto* ( $480$  e  $1.610 \mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$ ) (JERKOVIC; MARIJANOVIC, 2010).

Após o procedimento de digestão gástrica, para todas as amostras não foram evidenciadas diferenças significativas no resultado da avaliação da capacidade antioxidante pelo método FRAP quando comparados aos resultados das amostras antes da digestão *in vitro* (Tabela 2.3) (SERAGLIO et al., 2017). Este fato resultou em uma percentagem aproximada de 100% de capacidade antioxidante das amostras de mel, mesmo após a etapa de digestão gástrica, quando comparadas a etapa que antecedeu à simulação, como demonstrado na Figura 2.2.

Figura 2.2 – Comportamento da capacidade antioxidante (%) das amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) após a digestão gástrica (A) e duodenal (B)



Legenda: Barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ ; capacidade antioxidante de redução do ferro – FRAP, do inglês, *ferric reducing antioxidant power*; 2,2-difenil-1-picirilhidrazila – DPPH, do inglês, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*; FC – capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu.

Fonte: Próprio autor (2017).

No entanto, este comportamento não foi mantido após a etapa de digestão duodenal, em que foi observado um decréscimo significativo da capacidade antioxidante pelo método FRAP das amostras de mel em relação às concentrações encontradas após a digestão gástrica e em relação às concentrações iniciais, com exceção da amostra de mel de Lages (Tabela 2.3) (SERAGLIO et al., 2017), resultando em uma atividade de  $75,0 \pm 3,3$  a  $92,3 \pm 1,4\%$  (Figura 2.2). O mesmo comportamento foi observado para dois dos quatro méis comerciais (mel de Manuka da Nova Zelândia, mel 100% puro irlandês e duas marcas populares) avaliados por O'Sullivan et al. (2013), em que foi verificado um decréscimo significativo nas concentrações de FRAP após a simulação completa da digestão.

Para o ensaio DPPH, os resultados variaram de  $31,0 \pm 0,3$  a  $38,3 \pm 1,2$  mg AAE  $100 \text{ g}^{-1}$  para as amostras de mel não digeridas, em que novamente as amostras de mel de Urubici e Lages apresentaram as maiores concentrações (Tabela 2.3) (SERAGLIO et al., 2017). Os resultados encontrados neste estudo foram similares aos reportados para os méis de melato de Burkina Faso (MEDA et al., 2005a) e da República Tcheca (LACHMAN et al., 2010b), em que os resultados encontrados variaram de 24,8 a 32,4 e de 37,6 a 44,2 mg EAA  $100 \text{ g}^{-1}$ , respectivamente.

Após a digestão gástrica, foi verificado um decréscimo significativo nos resultados de capacidade antioxidante pelo método DPPH em comparação às concentrações iniciais (Tabela 2.3) (SERAGLIO et al., 2017), resultando em uma queda próxima à metade da atividade inicial das amostras avaliadas (Figura 2.2). Adicionalmente, após a etapa duodenal de digestão, um aumento significativo foi verificado nas concentrações de DPPH com relação aos resultados pós digestão gástrica, entretanto ainda foram inferiores aos teores iniciais, com exceção da amostra de mel de Urupema (Tabela 2.3) (SERAGLIO et al., 2017). Sendo assim, após a digestão duodenal, as amostras apresentaram percentagem satisfatória (superior a 78%) de capacidade antioxidante (Figura 2.2). Estes resultados estão em concordância com o estudo realizado por O'Sullivan et al. (2013), em que da mesma forma foi observado um decréscimo significativo nas concentrações de DPPH após a digestão *in vitro* para diferentes méis comerciais investigados.

Em relação ao ensaio FC, todas as misturas de mel não digeridas diferiram estatisticamente entre si, apresentando concentrações entre  $109,6 \pm 1,0$  a  $142,0 \pm 1,6$  mg GAE  $100 \text{ g}^{-1}$  (Tabela 2.3). Em concordância com os resultados apresentados pelos outros ensaios para avaliação da capacidade antioxidante, a amostra de mel de Urupema apresentou novamente os menores valores (SERAGLIO et al., 2017). É importante observar que os municípios de Urubici e Lages apresentam altitudes (1087 e 930 m, respectivamente) inferiores a Urupema (1342 m), fato este que pode resultar em distintas condições de solo, temperatura, ensolação, umidade, vegetação e outros fatores, os quais consequentemente podem afetar a composição química dos méis originados de cada região (SERAGLIO et al., 2017). Para este estudo, os resultados encontrados foram maiores ou similares aos reportados para méis de melato de diferentes origens botânicas, como de *Pinus L.* e *Quercus robur*, os quais variaram de 19,27 a 140,6 mg GAE  $100 \text{ g}^{-1}$  (CAN et al., 2015; ESCUREDO et al., 2013; LACHMAN et al., 2010b).

Após a digestão gástrica, diferentes comportamentos foram observados em relação às concentrações de FC (Tabela 2.3). A amostra de mel de Urupema não diferiu estatisticamente, enquanto que a amostra de mel de Urubici apresentou um acréscimo significativo e a amostra

de mel de Lages sofreu um decréscimo importante nas concentrações de FC quando comparados aos resultados observados na etapa antes da digestão (SERAGLIO et al., 2017). Estas oscilações resultaram em percentagens que variaram de  $84,3 \pm 2,1$  a  $117,7 \pm 1,8\%$  para a capacidade antioxidante apresentada pelas amostras (Figura 2.2). Em relação à etapa duodenal, todas as amostras de mel sofreram um decréscimo significativo nos teores de FC em comparação com às concentrações pós digestão gástrica e às concentrações iniciais (Tabela 2.3) (SERAGLIO et al., 2017), resultando em percentagens de capacidade antioxidante que variaram de  $41,1 \pm 1,4$  a  $74,2 \pm 2,0\%$  (Figura 2.2). Este comportamento não foi observado para o ensaio de FC em diferentes méis florais comerciais avaliados por O'Sullivan et al. (2013) após simulação completa da digestão, em que diferenças significativas não foram observadas, sendo que o processo de digestão *in vitro* adotado pelos autores consistiu basicamente da digestão gástrica com pepsina em pH 2 com agitação por 1 h a 37 °C; seguido da digestão duodenal utilizando pancreatina e sais biliares em pH 7,4 com agitação por 2 h a 37 °C; o que pode ter contribuído para a diferença dos resultados observados em ambos estudos, não menos importante que a diferença de composição entre as amostras (SERAGLIO et al., 2017).

Apesar de diferentes comportamentos terem sido verificados para as amostras de méis avaliadas, especialmente para o ensaio FC, as concentrações encontradas para os experimentos de FRAP e FC sugeriram que em condições gástricas, ocorre uma estabilidade satisfatória dos compostos responsáveis pela capacidade antioxidante, porém uma instabilidade notável durante a digestão duodenal (SERAGLIO et al., 2017). Estes comportamentos podem estar relacionados a uma série de fatores atuando de forma isolada ou conjunta, tais como: a interação entre polifenóis e outros constituintes da matriz alimentar ou do sistema digestivo, a exemplo das enzimas atuantes; a influência no aumento ou diminuição de disponibilidade dos compostos antioxidantes, incluindo os compostos fenólicos, nas condições de digestão empregadas, com especial atenção ao pH do meio reacional durante a simulação da digestão (CHEN et al., 2016).

A influência do pH sobre os compostos fenólicos depende fortemente de sua estrutura química (FRIEDMAN; JÜRGENS, 2000), ou seja, compostos fenólicos com alta capacidade antioxidante em condições de digestão gástrica (pH próximo a 2) não necessariamente apresentarão o mesmo comportamento em meio reacional alcalino (etapa de digestão duodenal), como foi observado para alguns compostos, como ácido gálico e catequina, por Tagliazucchi et al. (2010). Este fato sugere em especial a influência do pH sobre a estabilidade de polifenóis, assim como a possibilidade de ocorrência de degradação ou transformação destes compostos (TAGLIAZUCCHI et al., 2010). Comumente, diversos compostos fenólicos se mostram estáveis em meio ácido e/ou condições gástricas, como já observado para o ácido cafeico,

quercetina e ácido clorogênico (BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007; TAGLIAZUCCHI et al., 2010), no entanto, em meio neutro ou levemente alcalino (condições encontradas durante a digestão duodenal), transformações químicas incluindo formação de intermediários quinonas instáveis e de outros compostos oxidados (FRIEDMAN; JÜRGENS, 2000), além do comprometimento da estrutura de agliconas podem ocorrer (HU et al., 2010). Estas condições podem levar, portanto, a alterações das propriedades químicas dos compostos antioxidantes e conseqüentemente sua atividade (BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007).

É importante destacar que os méis de melato normalmente apresentam teores elevados de proteínas, minerais e oligossacarídeos quando comparados aos méis florais (BOGDANOV; RUOFF; PERSANO-ODDO, 2004; ESCUREDO et al., 2013). Frente a este fato, o processo de digestão pode contribuir na liberação de compostos com ação antioxidante que possam estar interagindo com outros constituintes da matriz, tais como minerais e proteínas (SAURACALIXTO; SERRANO; GOÑI, 2007). A ocorrência destas interações durante o processo de digestão também pode levar à formação de complexos químicos e mudanças na estrutura química, massa molar e solubilidade de polifenóis assim como de outras substâncias antioxidantes (ARGYRI; KOMAITIS; KAPSOKEFALOU, 2006; SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). Finalmente, estes fatores podem levar à diminuição (ARGYRI; KOMAITIS; KAPSOKEFALOU, 2006; SCALBERT; WILLIAMSON, 2000) ou aumento da bioacessibilidade de compostos fenólicos e outras substâncias com potencial antioxidante (HELAL et al., 2014).

Em comparação aos demais ensaios para avaliação da capacidade antioxidante, os resultados obtidos pelo ensaio DPPH para as amostras de mel de melato de bracinga sugeriram um aumento na capacidade antioxidante após o processo de digestão duodenal em relação à etapa gástrica (SERAGLIO et al., 2017). Sabe-se que a atividade de desativação de radicais de compostos fenólicos depende fortemente do pH do sistema reacional, sendo que um aumento na capacidade antioxidante pode ocorrer devido ao aumento do pH do meio (TAGLIAZUCCHI et al., 2010). Este comportamento pode estar relacionado à desprotonação dos grupamentos hidroxilas do anel aromático dos compostos fenólicos devido ao decréscimo da energia necessária para dissociação das ligações O-H, o qual facilita as reações de doação de hidrogênio, como também pelo decréscimo do potencial de ionização, resultando no aumento da capacidade de doação de elétrons (TYRAKOWSKA et al., 1999). Desta forma, o sistema de digestão duodenal pode atuar na indução de mudanças como a ionização dos compostos fenólicos (TAGLIAZUCCHI et al., 2010), podendo resultar no aumento dos teores de DPPH nesta etapa

com relação à etapa de digestão gástrica (SERAGLIO et al., 2017). Por outro lado, a capacidade antioxidante do mel de melato de bracatinga sofreu influência negativa especialmente durante as condições de digestão duodenal, com decréscimos inferiores a 30%, o que permite ainda assim concluir que o mel de melato de bracatinga apresenta propriedades antioxidantes satisfatórias, mesmo após a digestão *in vitro* (SERAGLIO et al., 2017).

#### 3.4 Correlação entre a capacidade antioxidante, fenólicos individuais e minerais

A provável existência de correlação entre os parâmetros avaliados antes, durante e após a digestão *in vitro* foi investigada e está apresentada na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 – Coeficientes de correlação obtidos entre diferentes parâmetros avaliados antes, durante e após a digestão *in vitro* (continua)

| Parâmetros                  | Não-digerido |         |         | Fase gástrica |        |         | Fase duodenal |         |         |
|-----------------------------|--------------|---------|---------|---------------|--------|---------|---------------|---------|---------|
|                             | FRAP         | DPPH    | FC      | FRAP          | DPPH   | FC      | FRAP          | DPPH    | FC      |
| DPPH                        | 0,929*       |         |         | 0,459         |        |         | 0,168         |         |         |
| FC                          | 0,695*       | 0,794*  |         | 0,211         | 0,705* |         | -0,539        | 0,622   |         |
| Ácido benzoico              | 0,445        | 0,554   | 0,937*  | 0,739*        | 0,033  | -0,322  | 0,589         | -0,625  | -0,982* |
| Ácido cafeico               | 0,602        | 0,560   | -0,009  | 0,261         | 0,679* | 0,983*  | 0,578         | 0,825*  | 0,346   |
| Ácido clorogênico           | -0,323       | -0,228  | 0,370   | 0,035         | -0,640 | -0,946* | -0,291        | -0,900* | -0,617  |
| Coniferaldeído              | -0,972*      | -0,978* | -0,792* | -0,749*       | -0,650 | -0,590  | -0,990*       | -0,187  | 0,505   |
| Ácido <i>p</i> -cumárico    | 0,302        | 0,112   | -0,404  | -0,062        | 0,586  | 0,931*  | 0,388         | 0,786*  | 0,470   |
| Ácido 3,4-dihidroxibenzoico | 0,467        | 0,591   | 0,948*  | 0,753*        | 0,072  | -0,337  | 0,754*        | -0,382  | -0,848* |
| Ácido ferúlico              | -0,587       | -0,645  | -0,224  | 0,060         | -0,497 | -0,847* | -0,745*       | 0,319   | 0,878*  |
| Ácido gálico                | 0,908*       | 0,937*  | 0,856*  | 0,725*        | 0,671* | 0,412   | 0,937*        | 0,197   | -0,443  |
| Hesperidina                 | 0,465        | 0,597   | 0,942*  | 0,739*        | 0,038  | -0,313  | 0,625         | -0,586  | -0,966* |
| Isoramnetina                | -0,524       | -0,443  | 0,014   | 0,338         | -0,366 | -0,775* | 0,363         | -0,363  | -0,705* |
| Kaempferol                  | 0,471        | 0,556   | 0,446   | 0,185         | -0,094 | -0,418  | 0,535         | 0,222   | -0,358  |
| Luteolina                   | -0,575       | -0,635  | -0,834* | -0,752*       | -0,262 | -0,218  | -0,744*       | 0,309   | 0,661   |
| Naringenina                 | 0,213        | 0,097   | -0,493  | -0,294        | 0,468  | 0,809*  | 0,098         | 0,967*  | 0,688*  |
| Pinobanksin                 | 0,321        | 0,248   | -0,360  | -0,100        | 0,578  | 0,873*  | 0,237         | 0,948*  | 0,629   |
| Pinocembrin                 | 0,387        | 0,509   | 0,914*  | 0,728*        | -0,035 | -0,376  | 0,524         | -0,674* | -0,976* |
| Quercetina                  | 0,618        | 0,730*  | 0,990*  | 0,835*        | 0,150  | -0,133  | 0,718*        | -0,500  | -0,957* |

Tabela 2.4 – Coeficientes de correlação obtidos entre diferentes parâmetros avaliados antes, durante e após a digestão *in vitro* (conclusão)

| Parâmetros                    | Não-digerido |        |        | Fase gástrica |        |        | Fase duodenal |         |         |
|-------------------------------|--------------|--------|--------|---------------|--------|--------|---------------|---------|---------|
|                               | FRAP         | DPPH   | FC     | FRAP          | DPPH   | FC     | FRAP          | DPPH    | FC      |
| Rutina/ composto desconhecido | 0,373        | 0,506  | 0,909* | 0,680*        | -0,018 | -0,395 | 0,517         | -0,666  | -0,972* |
| Ácido salicílico              | 0,566        | 0,666  | 0,979* | 0,809*        | 0,175  | -0,151 | 0,695*        | -0,510  | -0,967* |
| Siringaldeído                 | 0,378        | 0,484  | 0,911* | 0,691*        | -0,018 | -0,387 | 0,522         | -0,680* | -0,979* |
| Ácido siríngico               | 0,804*       | 0,904* | 0,959* | 0,858*        | 0,517  | 0,331  | 0,961*        | 0,095   | -0,651  |
| Soma dos fenólicos            | 0,470        | 0,580  | 0,948* | 0,754*        | 0,059  | -0,294 | 0,617         | -0,600  | -0,979* |
| K                             | 0,354        | 0,213  | 0,110  | 0,442         | 0,661* | 0,813* | 0,439         | 0,529   | 0,392   |
| Ca                            | 0,299        | 0,659* | 0,873* | 0,025         | 0,663* | 0,951* | 0,501         | 0,562   | 0,422   |
| Mg                            | 0,439        | 0,676* | 0,820* | 0,181         | 0,684* | 0,962* | 0,627         | 0,464   | 0,262   |

Legenda: \*  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ ; capacidade antioxidante de redução do ferro – FRAP, do inglês, *ferric reducing antioxidant power*; 2,2-difenil-1-picrilhidrazila – DPPH, do inglês, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*; FC – capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu; K – potássio; Ca – cálcio; Mg – magnésio.

Fonte: Adaptado de Seraglio et al. (2017).

De acordo com a Tabela 2.4, para as amostras de mel não digeridas, foi identificada correlação positiva e significativa entre os ensaios de capacidade antioxidante FRAP-DPPH ( $r = 0,929$ ), FRAP-FC ( $r = 0,695$ ) e DPPH-FC ( $r = 0,794$ ) (SERAGLIO et al., 2017). Este mesmo comportamento foi encontrado por Bertoneclj et al. (2011) em méis florais de acácia, castanha, multifloral e méis de melato de *Abies alba* Mill, *Picea abies* (L.) e de árvores coníferas e latifoliadas; por Saxena, Gautam e Sharma (2010) em méis comerciais da Índia; e por Lachman et al. (2010b) em méis florais (lima, multifloral e framboesa) e de melato da República Tcheca.

No entanto, os compostos fenólicos individuais avaliados neste estudo apresentaram majoritariamente correlação positiva e significativa apenas com o ensaio de FC, mesma tendência observada para a soma das concentrações dos compostos fenólicos encontrados nas amostras ( $r = 0,948$ ), o que sugere que os compostos fenólicos investigados não são os principais responsáveis pela capacidade antioxidante avaliada pelos ensaios FRAP e DPPH dos méis investigados (SERAGLIO et al., 2017).

Seguindo, para o ensaio de digestão *in vitro*, a correlação entre os resultados para capacidade antioxidante foram afetados especialmente após a etapa de simulação de digestão duodenal (SERAGLIO et al., 2017), o que está relacionado a modificações estruturais e de solubilidade dos compostos com ação antioxidante induzidas pelas condições do sistema digestivo alterando por consequência a atividade destes compostos frente a cada ensaio (PINACHO et al., 2015; WOOTTON-BEARD; MORAN; RYAN, 2011). Com relação aos compostos fenólicos individuais, após a digestão gástrica, muitos destes como o ácido gálico, hesperidina e pinocembrina, assim como a soma dos fenólicos, passaram a apresentar correlação positiva e significativa com o ensaio FRAP. No entanto, após a etapa de digestão duodenal, uma correlação negativa e significativa foi observada entre muitos compostos fenólicos, como o ácido salicílico, siringaldeído e quercetina, e o ensaio FC. O ensaio FC foi o ensaio de avaliação da capacidade antioxidante afetado de forma mais forte pelas condições duodenais, enquanto os compostos fenólicos individuais se apresentaram satisfatoriamente estáveis nesta condição. Sendo assim, estes dois comportamentos controversos parecem refletir na correlação negativa observada entre estes dois parâmetros. Portanto, como observado para as amostras de mel não digeridas, os compostos fenólicos individuais investigados não parecem ser os únicos compostos responsáveis pela capacidade antioxidante total deste mel (SERAGLIO et al., 2017).

Diferentes classes de compostos já foram relacionados com a capacidade antioxidante de méis, como aminoácidos, proteínas, peptídeos e minerais (CHUA; LEE; CHAN, 2015; ESCUREDO et al., 2013; PÉREZ et al., 2007). Neste sentido, foi investigado a existência de correlação entre minerais e capacidade antioxidante. Para as amostras de mel não digeridas, foi

observada correlação positiva e significativa entre os ensaios FC e DPPH e os minerais Ca e Mg (SERAGLIO et al., 2017). A correlação entre minerais e capacidade antioxidante já foi reportada na literatura como no estudo de Escuredo et al. (2013) em diferentes méis florais e mel de melato da Espanha. A ocorrência de complexação entre compostos fenólicos e minerais pode promover um efeito sinérgico e conseqüentemente contribuir para a capacidade antioxidante do mel (SANT'ANA et al., 2012). Após a etapa de digestão gástrica, a tendência de correlação positiva e significativa foi mantida. No entanto, após a etapa de digestão duodenal, estas correlações foram afetadas sugerindo mais uma vez que a capacidade antioxidante total deste mel parece ser atribuída também a outros constituintes (SERAGLIO et al., 2017).

#### 4 Conclusão

Neste estudo, foram avaliados os impactos da digestão *in vitro* sobre a capacidade antioxidante, compostos fenólicos e minerais de amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) do planalto catarinense (SERAGLIO et al., 2017).

Durante o processo de simulação da digestão gastrointestinal, os compostos fenólicos individuais bem como os minerais investigados se apresentaram estáveis e, em certos casos, aumentaram a sua concentração após a etapa de digestão duodenal, demonstrando percentuais de bioacessibilidade satisfatórias e conseqüentemente características semelhantes de biodisponibilidade. Por outro lado, a capacidade antioxidante apresentou um comportamento distinto, em que foi observado um declínio desta atividade, especialmente após a etapa de digestão duodenal, o que sugere a contribuição de outros constituintes presentes nas amostras avaliadas, além dos compostos fenólicos e minerais identificados (SERAGLIO et al., 2017).

Neste contexto é possível concluir que o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) pode ser considerado uma fonte promissora de compostos bioativos naturais biodisponíveis, principalmente no que se relaciona ao seu consumo *in natura*, revelando concentrações superiores quando comparados os resultados deste estudo com aqueles que avaliaram as mesmas características em méis florais e outros méis de melato. Adicionalmente, é importante destacar o ineditismo, até o presente momento, de um estudo que avaliou a bioacessibilidade de compostos fenólicos individuais em méis, assim como a capacidade antioxidante e teores de fenólicos e minerais individuais em mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) antes, durante e após a digestão *in vitro*.

**CAPÍTULO 3 – Efeitos do armazenamento em parâmetros de qualidade de méis de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham) do planalto catarinense**

Dados apresentados neste Capítulo fazem parte de artigo que será submetido ao periódico  
Food Research International

## Resumo

Os méis de melato vêm ganhando destaque no cenário mundial pelas suas características sensoriais, nutricionais e bioativas. Nesse contexto, pode-se destacar o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), um mel genuinamente brasileiro produzido a cada dois anos especialmente no planalto catarinense. Considerando essa característica peculiar de produção, evidencia-se a importância do monitoramento das possíveis alterações promovidas na composição desse mel devido às condições de armazenamento a fim de assegurar a qualidade desse produto ao consumidor. Neste sentido, esse estudo teve como objetivo investigar, pela primeira vez, a influência do armazenamento do mel de melato de bracatinga do planalto catarinense nos parâmetros de qualidade – umidade, acidez livre, em lactona e total, pH, ácidos orgânicos alifáticos, açúcares, aminoácidos, 5-hidroxiacetilfurfural, atividade diastásica e condutividade elétrica – sob condições de temperatura controlada a 40 °C por 4 meses e a temperatura ambiente ao longo 24 meses. Nesse estudo, foi observado que a estocagem do mel de melato de bracatinga em temperatura ambiente ( $23,0 \pm 2,3$  °C) por tempo prolongado (24 meses) resultou no decréscimo das concentrações de frutose, glicose, acidez em lactona, pH, atividade diastásica, ácido glutárico, ácido aspártico e ácido glutâmico e no aumento dos teores de maltose, acidez livre, 5-hidroxiacetilfurfural, ácido fórmico, ácido lático, ácido glucônico e ácido acético. Essas alterações foram intensificadas na condição de estocagem a 40 °C pelo período de quatro meses. Apenas a umidade, condutividade elétrica, ácido succínico, ácido cítrico, ácido málico e ácido glicólico foram pouco afetados pelas condições de estocagem aplicadas. Como resultado dessas alterações, o mel de melato de bracatinga apresentou valores em desacordo com os limites preconizados para acidez livre, atividade diastásica, 5-hidroxiacetilfurfural e açúcares redutores para algumas das amostras avaliadas. Porém, os elevados valores de acidez livre foram considerados uma característica intrínseca desse produto e não vinculada a perda de qualidade. Foi possível sugerir também o 5-HMF e o ácido glutâmico como adequados indicadores de aquecimento prolongado e estocagem prolongada do mel de melato de bracatinga, além do ácido glutárico e atividade diastásica como indicadores de aquecimento prolongado desse mel. Portanto, pode-se sugerir que o armazenamento do mel de melato de bracatinga em temperatura alta deve ser evitado e que, desconsiderando os resultados referentes à acidez livre, este mel pode ser armazenado em temperatura ambiente por, no máximo, 16 meses, com a manutenção dos parâmetros físico-químicos assegurando ao consumidor sua qualidade. Além disso, esse estudo relatou pela primeira vez a influência das condições de armazenamento sobre os ácidos orgânicos alifáticos em méis.

## 1 Introdução

O mel de melato, definido como um produto natural produzido a partir de secreções de partes vivas de plantas e/ou de excreções de insetos sugadores de plantas por abelhas do gênero *Apis mellifera* (BRASIL, 2000; EUROPEAN COMMISSION, 2002), tem se destacado no cenário internacional, especialmente no mercado europeu. Este mel apresenta maiores valores de pH, cinzas, proteínas, e menores teores de glicose e frutose quando comparados aos méis florais, além de possuir características sensoriais diferenciadas, especialmente relacionadas a cor e sabor (BERGAMO et al., 2019a; ESCUREDO et al., 2013; MATEO; BOSCH-REIG, 1998; PASCUAL-MATÉ et al., 2018; PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017).

No Brasil, o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) tem despertado o interesse dos consumidores, uma vez que este produto tem sido alvo de diversos estudos que apontam diversas propriedades bioativas, na maioria das vezes superiores quando comparados aos méis de origem floral. Esse mel é produzido por abelhas *Apis mellifera* a partir de excreções açucaradas secretadas por cochonilhas (*Tachardiella* sp. ou *Stigmatococcus paranaensis* Foldi) que se fixam nas árvores de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham). A produção deste mel ocorre normalmente entre os meses de janeiro a junho, que consiste nos períodos de maior escassez de néctar, e em períodos bianuais, devido ao ciclo de vida do inseto (MARTINS; ORTH; NARDI, 2003; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015).

Períodos de tempo e temperaturas máximas para o armazenamento do mel não são especificadas por organizações regulamentadoras. No entanto, o armazenamento deste produto deve ser feito de forma a não comprometer a sua qualidade. Em locais onde temperaturas mais altas são rotineiras (temperaturas médias acima de 22 a 24 °C), podendo chegar a temperaturas próximas a 40 °C, atenção especial deve ser direcionada ao seu armazenamento, evitando-se períodos muito longos de estocagem (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012; MOREIRA et al., 2007, 2010; SEBRAE, 2009). Visto que o mel de melato de bracatinga é produzido a cada dois anos, o armazenamento deste produto por este período se torna muitas vezes comercialmente necessário ou desejado. O monitoramento das possíveis alterações promovidas na composição desse mel, como efeito do tempo e temperatura de armazenamento, se torna de suma importância, a fim de assegurar a qualidade ao consumidor durante esse período. Além disso, ainda são exíguos os estudos encontrados na literatura que relacionam a influência das condições de armazenamento na composição de méis de melato, bem como sobre classes específicas de compostos presentes (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008, 2012; CAVIA et al.,

2007; FASASI, 2012; IGLESIAS et al., 2006; KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016b; QAMER et al., 2013; RYBAK-CHMIELEWSKA, 2007; SOARES et al., 2017).

Nesse contexto, esse estudo teve como objetivo investigar a influência do armazenamento do mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) do planalto catarinense nos parâmetros de qualidade – umidade, acidez livre, em lactona e total, pH, ácidos orgânicos alifáticos, açúcares, aminoácidos, 5-hidroximetilfurfural, atividade diastásica e condutividade elétrica – sob condições de temperatura controlada, a 40 °C, e temperatura ambiente, ao longo de 4 e 24 meses, respectivamente.

## 2 Materiais e métodos

### 2.1 Amostras

É importante ressaltar inicialmente que o grau de pureza das amostras, produção bianual e limitada ao primeiro semestre, produção limitada a localidades geográficas específicas e baixa disponibilidade do produto no mercado nacional, foram fatores determinantes e que dificultaram a aquisição de amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) para a realização desse estudo.

Favos inteiros ou partes de favos de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) foram coletados diretamente com apicultores dos municípios de Urupema ( $n=6$ ), Bocaina do Sul ( $n=2$ ) e Lages ( $n=4$ ), no estado de Santa Catarina, Brasil, durante a safra de 2016, como apresentado na Tabela 3.1. Esta coleta contou com apoio técnico do Engenheiro Agrônomo da EPAGRI de Lages, Sr. Saulo Luiz Poffo.

Tabela 3.1 – Localização geográfica e informações sobre méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham)

| Local          | Localização geográfica | Número de favos | Mês de coleta | Código da amostra |
|----------------|------------------------|-----------------|---------------|-------------------|
| Urupema        | Altitude: 1342 m       | 2               | 04/2016       | UR1               |
|                | Latitude: 28° 17' 38"  | 2               | 04/2016       | UR2               |
|                | Longitude: 49° 55' 54" | 2               | 05/2016       | UR3               |
| Bocaina do Sul | Altitude: 860 m        | 2               | 04/2016       | BS1               |
|                | Latitude: 27° 44' 40"  |                 |               |                   |
|                | Longitude: 49° 56' 40" |                 |               |                   |
| Lages          | Altitude: 930 m        | 2               | 03/2016       | LG1               |
|                | Latitude: 27° 49' 0"   | 2               | 06/2016       | LG2               |
|                | Longitude: 50° 19' 35" |                 |               |                   |

Legenda: UR, Urupema; BS, Bocaina do Sul; LG, Lages.

**Fonte:** Próprio autor (2019).

Todos os favos de mel foram acondicionados individualmente em sacos plásticos previamente identificados e transportados em caixas isotérmicas a  $5 \pm 2$  °C até o Laboratório de Química de Alimentos, localizado no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFSC, imediatamente após a sua coleta. Cada amostra de mel de melato de bracinga foi constituída pela mistura de dois favos procedentes do mesmo produtor, totalizando, portanto, seis amostras de mel de melato de bracinga (Tabela 3.1). Todas as amostras pertencentes ao estudo foram coletadas entre os meses de março e junho, após o transporte (sob condições citadas anteriormente) até o laboratório, as mesmas foram submetidas à drenagem manual a partir dos favos, e posterior filtração com gaze estéril para retirada dos sedimentos remanescentes. Após a filtração as amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em frascos de polipropileno – higienizados previamente com água ultrapura e álcool 70 % (v/v) – com capacidade para 700 mL. Na sequência as amostras foram congeladas ( $- 20 \pm 2$  °C). Esta abordagem foi necessária uma vez que as amostras foram coletadas entre os meses de março e junho de 2016, sendo que não havia uma previsão de volume a ser coletado pelos apicultores, e apenas ao final do período de coleta foi possível selecionar as amostras de acordo com a quantidade que fosse suficiente para a realização de todas as análises ao longo do período estipulado no estudo. Ao final do período de coleta todas as amostras foram descongeladas simultaneamente, em temperatura ambiente e selecionadas para o início dos experimentos, denominado “tempo zero”.

## 2.2 Estudo do tempo de vida útil do mel de melato de bracinga

Após descongeladas e homogeneizadas, as amostras de mel foram avaliadas antes da estocagem, sendo este considerado o tempo zero, e então imediatamente submetidas a duas diferentes condições de armazenamento, ambas na ausência de luz: a temperatura ambiente e a temperatura controlada de 40 °C.

No estudo do armazenamento do mel, para cada amostra, 85 g de mel foram transferidas para sete frascos de polipropileno com capacidade de 100 mL próprios para armazenamento de mel, previamente higienizados e vedados com o auxílio de tampas. Destes, um frasco de cada amostra foi estocado à temperatura controlada de 40 °C e avaliado após quatro meses de armazenamento. Os demais frascos (seis frascos) de cada amostra foram estocados à temperatura

ambiente e, a cada quatro meses, um frasco foi avaliado. Desta forma, seis avaliações foram realizadas ao longo de 24 meses de armazenamento à temperatura ambiente.

O monitoramento das temperaturas (Tabela 3.2) foi realizado através do uso de Data Logger calibrado (Highmed, modelo HM-160, São Paulo, São Paulo, Brasil) com medições a cada 12 h para a temperatura de 40 °C e a cada seis horas para o monitoramento da condição de armazenamento a temperatura.

Tabela 3.2 – Monitoramento das temperaturas de estocagem dos méis de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham)

| Condição de estocagem | Período de estocagem |             |              |               |               |               | Média      |
|-----------------------|----------------------|-------------|--------------|---------------|---------------|---------------|------------|
|                       | 0 – 4 meses          | 4 – 8 meses | 8 – 12 meses | 12 – 16 meses | 16 – 20 meses | 20 – 24 meses |            |
| TA                    | 21,8 ± 1,8           | 25,9 ± 1,7  | 22,0 ± 1,7   | 22,4 ± 1,2    | 24,9 ± 1,0    | 21,6 ± 2,2    | 23,0 ± 2,3 |
| TC                    | 40,5 ± 0,3           | -           | -            | -             | -             | -             | 40,5 ± 0,3 |

Legenda: TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; (-) – não aplicável; Resultados expressos como média ± desvio padrão.

Fonte: Próprio autor (2019).

### 2.3 Reagentes e soluções

Para todas as análises, reagentes de grau analítico (pureza  $\geq 95\%$ ) e água ultrapura (Milli-Q, Millipore, Bedford, Massachusetts, E.U.A.) foram utilizados.

Os reagentes 5-HMF, cafeína, dodecil sulfato de sódio (SDS, do inglês, *sodium dodecyl sulfate*), tetraborato de sódio (TBS, do inglês, *sodium tetraborate*), ácido ftálico, brometo de cetil trimetil amônio (CTAB, do inglês, *cetyl trimethylammonium bromide*), ramnose, maltose, celobiose, xilose, rafinose, melezitose, glicose, sacarose, frutose, lactose, ácido 3,5-dinitrobenzoico,  $\beta$ -alanina, ácido maleico, ácido malônico, ácido tartárico, ácido fórmico, ácido cítrico, ácido málico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido succínico, ácido acético, ácido propiônico, ácido glucônico, ácido glutárico, ácido trifluoroacético, ácido aspártico, ácido glutâmico foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, E.U.A.). A aquisição do hidróxido de sódio, ácido clorídrico, amido solúvel, acetato de sódio, cloreto de sódio, iodeto de potássio foram realizados da Vetec (Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil).

## 2.4 Determinação da umidade, acidez (livre, lactona e total), pH, atividade diastásica e condutividade elétrica

O teor de umidade foi determinado de acordo com o método refratométrico 969.38 B (AOAC, 2005) e expresso em g 100 g<sup>-1</sup>.

A determinação do pH e da acidez livre, em lactona e total foram realizados com base no método titulométrico 962.19 (AOAC, 2005) com o auxílio de pHmetro (modelo DM-22, Digimed, São Paulo, São Paulo, Brasil). A acidez foi expressa como mEq kg<sup>-1</sup>.

A atividade diastásica foi determinada pelo método espectrofotométrico 958.09 (AOAC, 2005) e expresso como unidades Göthe.

A condutividade elétrica de solução de mel em água (20 %, m/v) foi determinada em condutivímetro (modelo Tec-4MP, Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 25 °C (BOGDANOV et al., 1999) e expressa em mS (mili Siemens) cm<sup>-1</sup>.

## 2.5 Determinação simultânea de ácidos orgânicos alifáticos e aminoácidos

A determinação de ácidos orgânicos alifáticos e de aminoácidos foi realizada de acordo com o método proposto por Azevedo et al. (2014), com modificações, utilizando um sistema de CE-DAD. Capilar de sílica fundida de comprimento total de 73 cm (64,5 cm comprimento efetivo e 75 µm de diâmetro interno) foi utilizado. A solução de BGE foi composta por 21 mmol L<sup>-1</sup> de β-alanina, 10 mmol L<sup>-1</sup> de ácido 3,5-dinitrobenzoico e 1,5 mmol L<sup>-1</sup> de CTAB (pH 3,6). Entre corridas, o capilar foi recondicionado por 60 s com solução de BGE. A detecção dos analitos foi realizada em 254 nm (detecção indireta, com referência em 360 nm), a temperatura do cassete foi mantida a 25 °C e a voltagem de separação aplicada foi de -30 kV. As amostras e padrões foram introduzidos hidrodinamicamente no sistema de CE (50 mbar por 3 s) pelo *inlet*.

As amostras (1,0 g) foram diluídas na proporção 1:4 com água (m/v), centrifugadas a 6585 g por 10 min e o sobrenadante diluído na proporção 9:1 (v/v) com padrão interno ácido trifluoroacético (concentração final de 57,0 mg L<sup>-1</sup>). Posteriores diluições foram realizadas quando necessário. A quantificação dos ácidos orgânicos e aminoácidos foi realizada a partir de interpolação com curva analítica construída em cinco níveis de concentração equidistantes e os resultados serão expressos como mg 100 g<sup>-1</sup>.

Este método foi validado analiticamente para mel de melato de bracatinga com base em protocolos e recomendações da Eurachem e Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (BRASIL, 2011; EURACHEM, 2014) quanto aos parâmetros de faixa de trabalho, linearidade, efeito de matriz, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação (Anexo C).

## 2.6 Determinação de carboidratos

A identificação e quantificação de açúcares (ramnose, maltose, celobiose, xilose, rafinose, melezitose, glicose, sacarose, frutose) foi realizada de acordo com o método validado analiticamente para mel de melato de bracinga proposto por Bergamo et al. (2019) utilizando um sistema de CE-DAD. A solução de BGE foi composta de 30 mmol L<sup>-1</sup> de ácido ftálico, 1,5 mmol L<sup>-1</sup> de CTAB e 100 mmol L<sup>-1</sup> de NaOH, pH 12,45. Capilar de sílica fundida de 90 cm de comprimento total, 81,5 cm de comprimento efetivo e 50 µm de diâmetro interno foram empregados. A detecção foi realizada em 230 nm (detecção indireta, com referência em 360 nm), a temperatura do cassete foi de 25 °C e a voltagem de separação foi de -20 kV. O acondicionamento do capilar entre corridas com BGE foi realizado por 120 s. A injeção das amostras e padrões foi realizada pelo *inlet* e por pressão hidrodinâmica (50 mbar por 3 s).

As amostras (0,5 g) foram diluídas na proporção 1:19 com água (m/v), centrifugadas a 6585 g por 10 min e o sobrenadante diluído na proporção 9:1 (v/v) com padrão interno lactose (concentração final de 1,71 g L<sup>-1</sup>). Posteriores diluições foram realizadas quando necessário. A quantificação foi realizada a partir de interpolação com curva analítica construída em cinco níveis de concentração equidistantes variando de 0,18 – 2,88 g L<sup>-1</sup> para frutose e glicose; 0,12 – 0,36 g L<sup>-1</sup> para xilose; 0,16 – 0,49 g L<sup>-1</sup> para ramnose; 0,34 – 1,03 g L<sup>-1</sup> para maltose, celobiose e sacarose; e 0,50 – 1,51 g L<sup>-1</sup> para rafinose e melezitose. Os resultados foram expressos como g 100 g<sup>-1</sup>.

## 2.7 Determinação de 5-hidroxiacetilfurfural

A determinação do teor de 5-HMF foi realizada de acordo com Rizelio et al. (2012b), com modificações, utilizando um sistema CE-DAD. A detecção foi realizada em 284 nm, a temperatura do cassete foi de 25 °C e a voltagem de separação foi de -30 kV. A solução de BGE foi composta de 5 mmol L<sup>-1</sup> de TBS e 120 mmol L<sup>-1</sup> de SDS, pH 9,3. Capilar de sílica fundida de 32 cm de comprimento total, 8,5 cm de comprimento efetivo e diâmetro interno de 75 µm foi utilizado. O acondicionamento do capilar entre corridas foi realizado por 60 s com BGE. A

introdução das amostras e padrões foi conduzida pela extremidade mais próxima ao detector (*outlet*) e por pressão hidrodinâmica (-50 mbar por 3 s).

As amostras (0,5 g) foram diluídas na proporção 1:1 com água (m/v), centrifugadas a 6585 g por 10 min e o sobrenadante diluído na proporção 9:1 (v/v) com padrão interno cafeína (concentração final de 200 mg L<sup>-1</sup>). Posteriores diluições foram realizadas quando necessário. A quantificação de 5-HMF foi feita a partir de interpolação com curva analítica construída em cinco níveis de concentração equidistantes (1 a 40 mg L<sup>-1</sup>) e os resultados foram expressos como mg kg<sup>-1</sup>.

Este método foi validado analiticamente para mel de melato de bracatinga com base em protocolos e recomendações da Eurachem e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011; EURACHEM, 2014) quanto aos parâmetros de faixa de trabalho, linearidade, efeito de matriz, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação (Anexo C).

## 2.8 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

Após a avaliação da homogeneidade das variâncias por meio do teste de Levene (LEVENE, 1960), a análise de variâncias foi aplicada e, quando verificada diferença significativa pelo F-teste, foi realizada a aplicação do teste de multicomparação de médias (teste de *Tukey*). Ainda, a possível existência de correlação significativa entre os diferentes parâmetros avaliados foi investigada por meio da análise de correlação de Pearson. Diferenças entre as médias no nível de 5 % ( $p < 0,05$ ) foram consideradas significativas.

Todas as análises foram realizadas utilizando os programas *Statistica 13.0* (licença adquirida pela UFSC), *Paleontological Statistics® 2.16* (acesso livre) e Microsoft Excel 2010 com a extensão *Action 2.9* (acesso livre).

## 3 Resultados e discussão

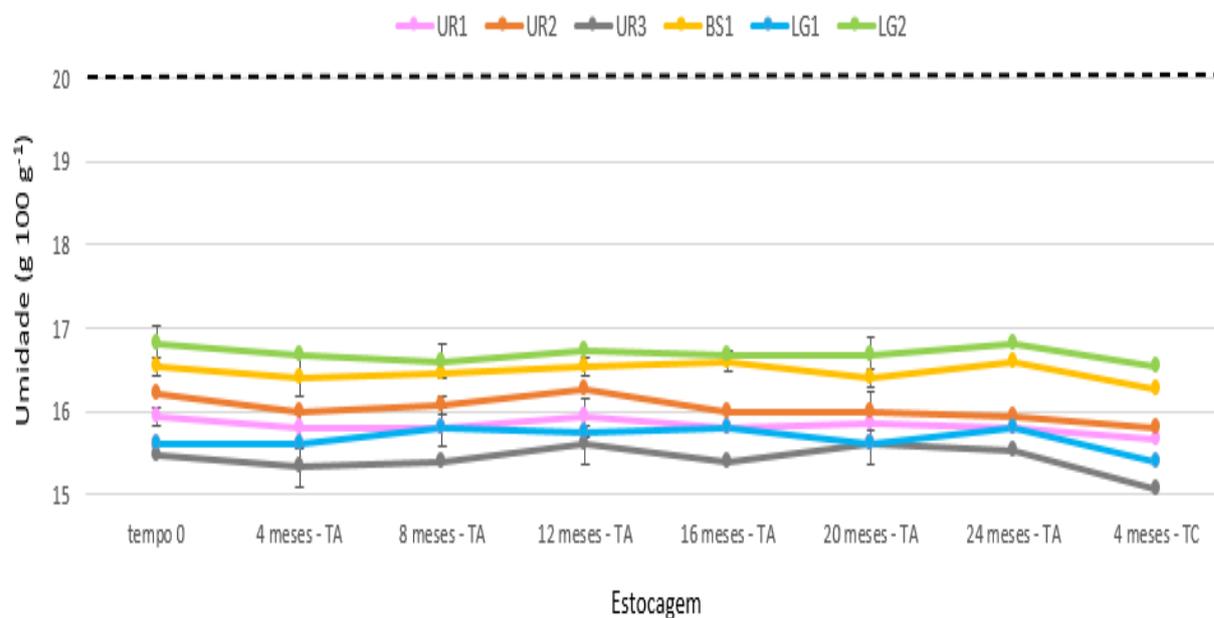
### 3.1 Umidade

A umidade do mel é dependente de diversos fatores como das condições ambientais, de manejo e de processamento, da origem botânica, do grau de maturação alcançado na colmeia,

entre outros, sendo explorado como um dos indicadores da maturidade desse produto (FECHNER et al., 2016; FLORES; ESCUREDO; CARMEN SEIJO, 2015).

Na Figura 3.1 (e Anexo E) é apresentado o teor de umidade dos méis de melato de bracatinga durante o seu armazenamento.

Figura 3.1 – Teor de umidade de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento



Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; (---) limite máximo estipulado por organizações regulamentadoras; barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ .

**Fonte:** Próprio autor (2019).

Conforme apresentado na Figura 3.1, o teor de umidade dos méis de melato de bracatinga no tempo zero variaram de  $15,47 \pm 0,23$  a  $16,80 \pm 0,00$  g 100 g<sup>-1</sup>. Esses resultados encontram-se próximos aos reportados para outros méis de melato como da Espanha e da Turquia, onde os valores de umidade variam de  $16,9 \pm 0,9$  a  $17,4 \pm 0,9$  g 100 g<sup>-1</sup> (CAN et al., 2015; ESCUREDO et al., 2013; FLORES; ESCUREDO; SEIJO, 2015; MANZANARES et al., 2011). É importante destacar também que os resultados encontrados para os méis de melato de bracatinga encontram-se abaixo do limite máximo de 20 g 100 g<sup>-1</sup> preconizado por distintas regulamentações (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002), sendo um indicativo de correta maturação desses méis.

A umidade dos méis de melato de bracatinga não variou significativamente durante o tempo de estocagem estudado a temperatura ambiente. Esse mesmo comportamento foi

verificado para os méis UR1, BS1 e LG2 estocados a temperatura controlada de 40 °C, por quatro meses, quando comparados ao tempo zero e a estocagem a temperatura ambiente. Para os demais méis (UR2, UR3 e LG1), a estocagem a temperatura controlada de 40 °C por quatro meses resultou em queda significativa do teor de umidade de forma pontual. Entretanto, a redução da umidade, identificada nessas amostras, foi < 3,5 %. Esses resultados também estão de acordo o limite máximo preconizado para esse parâmetro e indicam vedação eficiente dos frascos, resultando em baixa perda de água para o ambiente por meio da evaporação.

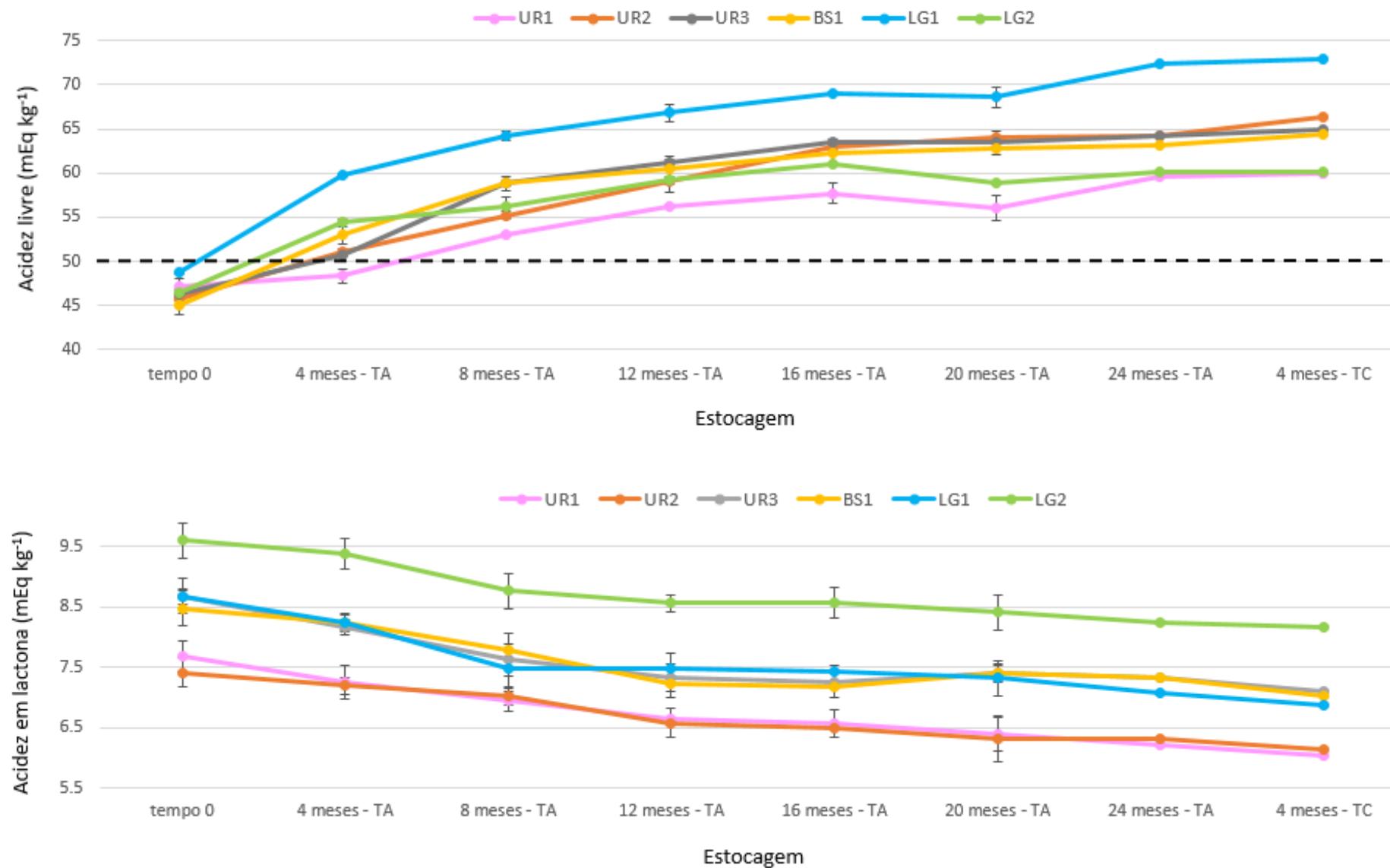
A umidade afeta várias propriedades do mel como a viscosidade, a cristalização, as características sensoriais e a conservação desse produto (CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006; ESCUREDO et al., 2013; FECHNER et al., 2016). Uma das principais consequências de teores de umidade acima de 20 g 100 g<sup>-1</sup> é a possibilidade de ocorrência de fermentação, o qual pode ser estimulada especialmente durante a estocagem do mel por ação de leveduras osmotolerantes sobre a conversão de açúcares redutores com formação de ácido acético e água (CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006; NAYIK; DAR; NANDA, 2015). Assim, considerando os valores de umidade dos méis de melato de bracatinga antes e durante a estocagem em ambas as condições estudadas, é esperado que processos de fermentação pós-colheita estimulados pela umidade não ocorram ou ocorram em baixas taxas nesses méis. De fato, a análise de correlação sugere que a umidade dos méis estocados seja mais influente em processos relacionados ao 5-HMF, devido à correlação significativa com 5-HMF e ácido fórmico (Anexo D), do que em processos de fermentação pós-colheita.

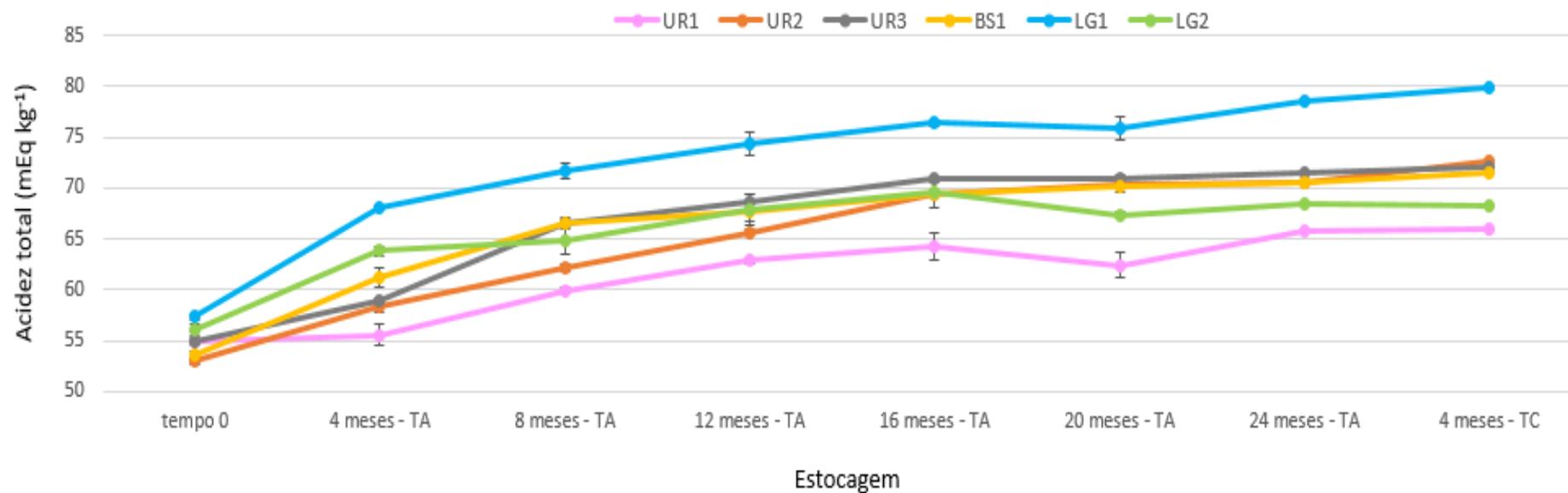
### 3.2 Acidez e pH

Relacionado ao frescor do mel, a acidez tem sido considerada um importante parâmetro indicativo de deterioração de méis por meio de processos de fermentação pós-colheita (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007; KARABAGIAS et al., 2020; SILVA et al., 2016).

Os valores de acidez livre, em lactona e total dos méis de melato de bracatinga durante o seu armazenamento são apresentados na Figura 3.2 (e Anexo E).

Figura 3.2 – Acidez livre, em lactona e total de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento





Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; mEq – miliequivalente; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; (---) limite máximo estipulado por organizações regulamentadoras; barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ .

**Fonte:** Próprio autor (2019).

Conforme apresentado na Figura 3.2, a acidez livre dos méis de melato de bracatinga no tempo zero variou de  $45,05 \pm 0,26$  a  $48,70 \pm 1,13$  mEq kg<sup>-1</sup>, resultados próximos do limite máximo de 50 mEq kg<sup>-1</sup> estabelecido por diferentes organizações regulamentadoras (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002). Para a acidez em lactona, valores entre  $7,41 \pm 0,29$  e  $9,60 \pm 0,27$  mEq kg<sup>-1</sup> foram encontrados para as amostras avaliadas no tempo zero. Assim, a acidez total variou de  $53,10 \pm 1,11$  a  $57,38 \pm 1,35$  mEq kg<sup>-1</sup> nessas amostras.

Em um primeiro momento, esses resultados indicam a possível ocorrência de processos de fermentação pós-colheita nesses méis. No entanto, alta acidez já foi reportada em méis de melato de bracatinga, com valores de até  $55,7 \pm 1,2$  mEq kg<sup>-1</sup> para a acidez livre e de até  $13,6 \pm 0,6$  mEq kg<sup>-1</sup> para a acidez em lactona (BERGAMO et al., 2019a), mesmo comportamento observado em outros méis de melato como de Marrocos (até 102,2 mEq kg<sup>-1</sup> para a acidez livre e até 13,0 mEq kg<sup>-1</sup> para a acidez em lactona) e da Espanha (até 58,4 mEq kg<sup>-1</sup> para a acidez livre e até 27,7 mEq kg<sup>-1</sup> para a acidez em lactona) (MANZANARES et al., 2011; TERRAB et al., 2003b; VELA; LORENZO; PÉREZ, 2007). Ainda, a coleta dos favos diretamente com os apicultores, o transporte e drenagem em condições higiênicas e o congelamento dessas amostras logo após a sua coleta, são fatores que permitem pressupor que essas amostras eram frescas e que contaminação microbiológica foi evitada, bem como o favorecimento de processos fermentativos pós-colheita. Sendo assim, é possível propor que a alta acidez dos méis de melato de bracatinga seja uma característica intrínseca desse produto e não majoritariamente oriunda de processos de fermentação pós-colheita.

Com relação às condições de armazenamento estudadas, devido aos valores de acidez livre apresentarem-se inicialmente muito elevados, quase todas as amostras (exceção da UR1 após 4 meses de armazenamento a temperatura ambiente) excederam o limite máximo exigido para a acidez livre. O aumento nos valores de acidez livre (até 48,7 %) foi mais intenso até o décimo segundo mês de estocagem a temperatura ambiente, seguido de uma certa estabilização. A estocagem em temperatura controlada de 40 °C por quatro meses também promoveu o aumento da acidez livre dos méis, especialmente quando comparados aos valores encontrados no tempo zero, e aos méis estocados em temperatura ambiente por até 12 meses, atingindo um aumento de 49,8 %.

Em relação a acidez em lactona, a estocagem dos méis em temperatura ambiente por 24 meses resultou em uma tendência de decréscimo nos valores desse parâmetro (até 19 %), especialmente até o oitavo mês de estocagem, seguido de certa estabilização. Igualmente, como verificado para a acidez livre, a estocagem dos méis em temperatura controlada de 40 °C por

quatro meses também promoveu alterações nos valores de acidez em lactona, especialmente quando comparados aos valores encontrados no tempo zero e aos méis estocados a temperatura ambiente por até 8 meses, com decréscimos de até 21,3 %.

Influenciada pela acidez livre, um aumento gradual nos valores de acidez total (até 36,8 %) foi observado nos méis estocados à temperatura ambiente, principalmente até o décimo segundo mês de estocagem, seguido de uma certa estabilização. Essa mesma tendência foi observada para os méis estocados a temperatura controlada de 40 °C por quatro meses, principalmente quando comparados aos teores verificados no tempo zero e nos méis estocados a temperatura ambiente por até 12 meses, com aumentos de até 39,1 %.

O aumento dos valores de acidez livre e acidez total vem sendo reportado em alguns estudos como sendo mais intenso conforme o aumento do tempo e da temperatura de estocagem (AL-GHAMDI et al., 2019; CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012; KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016b; QAMER et al., 2013). Em mel floral de urze estocados por 12 meses a 10, 20 e 40 °C, o aumento nos valores de acidez livre corresponderam a 9,7, 16,6 e 103,9 %, respectivamente, indicando a forte influência da temperatura sobre a acidez livre desse mel (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012). Esse mesmo comportamento foi observado em mel floral cítrico estocado por 12 meses a 10, 20 e 40 °C, porém os aumentos nos valores de acidez livre foram menos intensos, correspondendo a 4,8, 4,8 e 31,7 %, respectivamente (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008). A influência da estocagem prolongada sobre a acidez livre também foi evidenciada em mel floral de colza estocado por 18 meses em temperatura ambiente (20-26 °C), onde um aumento de 18,7 % foi observado para esse parâmetro após a estocagem (KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016b). Sendo assim, o aumento da acidez livre e total dos méis de melato de bracinga estocados pode ser considerado um comportamento naturalmente esperado.

Entretanto, o comportamento da acidez em lactona nos méis de melato de bracinga nas diferentes condições de estocagem estudadas foi distinta quando comparada a outros estudos, onde um aumento nos valores de acidez em lactona é comumente reportado em méis estocados (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008, 2012; MOREIRA et al., 2007; QAMER et al., 2013). Dessa forma, esse comportamento da acidez em lactona parece ser característico do mel de melato de bracinga, e um aprofundamento no seu estudo pode ser sugerido.

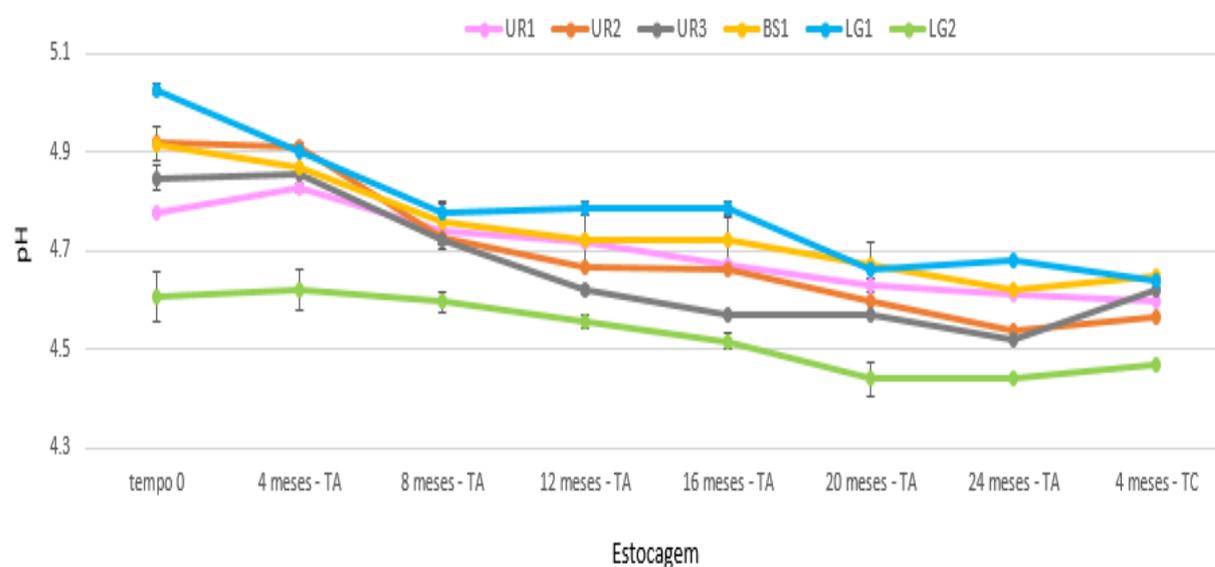
Apesar de alterações na acidez de méis estocados ser um comportamento esperado, os resultados encontrados nesse estudo levantam indagações quanto aos fatores responsáveis por essa característica e se a qualidade desse produto foi comprometida durante a estocagem. É conhecido que a acidez do mel é influenciada pela presença em equilíbrio de diferentes ácidos

orgânicos com suas respectivas lactonas, além de alguns íons inorgânicos como sulfatos e fosfatos (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007; KARABAGIAS et al., 2017; YÜCEL; SULTANOGLU, 2013). Além da fonte de nectar ou melato utilizada para a produção do mel, os ácidos orgânicos também podem ser derivados da ação de enzimas próprias do mel, de processos de fermentação, bem como da reidratação do 5-HMF (CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006; QAMER et al., 2013; SHAPLA et al., 2018; WEINGARTEN et al., 2012). Esses fatores foram destacados como possíveis contribuintes do aumento da acidez de méis estocados (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008; CAVIA et al., 2007; KHALIL; SULAIMAN; GAN, 2010). Nesse sentido, a investigação do perfil e concentração de ácidos orgânicos alifáticos nos méis de melato de bracatinga estocados se mostra de extrema importância. Essa determinação está prevista no escopo de análises para determinação dos efeitos promovidos pelo armazenamento.

Apesar de não exigido por organizações regulamentadoras, o pH também vem sendo avaliado em méis devido principalmente à sua relação com a estabilidade microbiológica desse produto (ESCUREDO; SEIJO; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, 2011; KARABAGIAS et al., 2020; YÜCEL; SULTANOGLU, 2013).

Na Figura 3.3 (e Anexo E), os valores de pH dos méis de melato de bracatinga durante a estocagem são apresentados.

Figura 3.3 – Valores de pH de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o tempo e condições de armazenamento



Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; mEq – miliequivalente; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ .

Fonte: Próprio autor (2019).

De acordo com a Figura 3.3, os valores de pH nos méis de melato de bracinga no tempo zero variaram de  $4,61 \pm 0,02$  a  $5,03 \pm 0,01$ , sendo estes valores próximos aos encontrados em méis de melato como da Grécia e da Espanha, onde valores normalmente próximos a 4,5 foram verificados (FLORES; ESCUREDO; SEIJO, 2015; KARABAGIAS et al., 2020; MANZANARES et al., 2011; RODRÍGUEZ-FLORES et al., 2019).

Com relação às condições de armazenamento avaliadas, foi verificado um decréscimo gradual (de até 7,7 %) nos valores de pH nos méis estocados a temperatura ambiente ao longo dos 24 meses de armazenamento. Essa mesma tendência foi observada para os méis estocados em temperatura controlada de 40 °C durante quatro meses, quando comparados ao tempo zero e aos méis estocados a temperatura ambiente, especialmente até os 16 meses, com decréscimos de até 7,7 %.

Decréscimos nos valores de pH de méis estocados também foram relatados na literatura, sendo mais intensos conforme o aumento do tempo e da temperatura de estocagem (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012; KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016b; QAMER et al., 2013; SOARES et al., 2017). Em mel floral de urze estocado por 12 meses a 10, 20 e 40 °C, os decréscimos nos valores de pH corresponderam a 5,6, 10,1 e 29,6 %, respectivamente, demonstrando a influência da temperatura sobre esse parâmetro (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012). O efeito da estocagem prolongada sobre o pH de méis também foi observado em mel floral de colza estocado por 18 meses a temperatura ambiente (20-26 °C) e em méis portugueses estocados por 4 anos a 25 °C, onde os decréscimos nos valores de pH chegaram a 21,5 % (KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016b; SOARES et al., 2017).

Assim, como observado para os méis de melato de bracinga estocados, os decréscimos nos valores de pH acompanharam o aumento dos valores de acidez livre em diversos estudos que avaliaram esta característica química em méis armazenados (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012; KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016b; QAMER et al., 2013). Dessa forma, considerando a influência de ácidos ionizados no pH dos méis (CAVIA et al., 2007), é possível sugerir a influência dos ácidos orgânicos alifáticos no comportamento dos valores de pH dos méis de melato de bracinga armazenados.

Nesse estudo, a correlação significativa entre pH-acidez livre (-0,952), pH-acidez em lactona (0,966) e acidez livre-acidez em lactona (-0,990) (Anexo D) evidenciaram a interdependência desses parâmetros e sugerem que a presença de compostos ionizados afetam esses três parâmetros de forma similar.

### 3.3 Ácidos orgânicos alifáticos

Os ácidos orgânicos alifáticos constituem normalmente até 1% da composição dos méis e contribuem fortemente para as características sensoriais e físico-químicas desses produtos, como o sabor, acidez, pH e condutividade elétrica (DEL CAMPO et al., 2016; HAROUN et al., 2012a; OHMENHAEUSER et al., 2013).

Na Tabela 3.3 são apresentadas as concentrações dos ácidos orgânicos alifáticos (AOA) determinados nos méis de melato de bracatinga durante o seu armazenamento.

Tabela 3.3 – Concentrações dos ácidos orgânicos alifáticos (mg 100 g<sup>-1</sup>) determinados em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (continua)

| AOA             | Amostra | Armazenamento                |                               |                                |                                |                                |                               |                              |                               |
|-----------------|---------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                 |         | Tempo 0                      | 4 meses – TA                  | 8 meses – TA                   | 12 meses – TA                  | 16 meses – TA                  | 20 meses – TA                 | 24 meses – TA                | 4 meses – TC                  |
| Ácido acético   | UR1     | 20,18 ± 0,71 <sup>c</sup>    | 20,50 ± 0,26 <sup>c</sup>     | 21,36 ± 0,61 <sup>bc</sup>     | 22,76 ± 0,35 <sup>ab</sup>     | 23,37 ± 0,81 <sup>a</sup>      | 23,63 ± 0,90 <sup>a</sup>     | 23,54 ± 1,10 <sup>a</sup>    | 24,58 ± 0,26 <sup>a</sup>     |
|                 | UR2     | 20,16 ± 0,36 <sup>c</sup>    | 20,57 ± 0,31 <sup>de</sup>    | 21,14 ± 0,74 <sup>cde</sup>    | 21,76 ± 0,17 <sup>bcd</sup>    | 22,24 ± 0,60 <sup>bc</sup>     | 22,36 ± 0,46 <sup>bc</sup>    | 22,46 ± 0,23 <sup>ab</sup>   | 23,63 ± 0,35 <sup>a</sup>     |
|                 | UR3     | 21,02 ± 0,25 <sup>c</sup>    | 21,01 ± 0,19 <sup>c</sup>     | 21,66 ± 0,27 <sup>bc</sup>     | 22,30 ± 0,27 <sup>b</sup>      | 22,47 ± 0,48 <sup>b</sup>      | 22,54 ± 0,61 <sup>b</sup>     | 22,63 ± 0,51 <sup>ab</sup>   | 23,70 ± 0,48 <sup>a</sup>     |
|                 | BS1     | 21,06 ± 0,17 <sup>c</sup>    | 21,58 ± 0,14 <sup>c</sup>     | 22,44 ± 0,43 <sup>d</sup>      | 23,38 ± 0,32 <sup>c</sup>      | 24,55 ± 0,28 <sup>b</sup>      | 24,84 ± 0,50 <sup>ab</sup>    | 24,83 ± 0,15 <sup>ab</sup>   | 25,60 ± 0,17 <sup>a</sup>     |
|                 | LG1     | 17,67 ± 0,27 <sup>c</sup>    | 18,10 ± 0,44 <sup>de</sup>    | 18,73 ± 0,74 <sup>cde</sup>    | 19,20 ± 0,62 <sup>cd</sup>     | 19,72 ± 0,40 <sup>bc</sup>     | 21,04 ± 0,46 <sup>ab</sup>    | 21,00 ± 0,24 <sup>ab</sup>   | 21,28 ± 0,43 <sup>a</sup>     |
|                 | LG2     | 10,72 ± 0,49 <sup>d</sup>    | 11,07 ± 0,31 <sup>cd</sup>    | 11,45 ± 0,44 <sup>cd</sup>     | 12,22 ± 0,45 <sup>bc</sup>     | 12,92 ± 0,51 <sup>ab</sup>     | 12,75 ± 0,47 <sup>ab</sup>    | 12,85 ± 0,22 <sup>ab</sup>   | 13,71 ± 0,47 <sup>a</sup>     |
| Ácido cítrico   | UR1     | 38,62 ± 1,42 <sup>b</sup>    | 38,71 ± 0,64 <sup>b</sup>     | 39,03 ± 1,02 <sup>ab</sup>     | 39,51 ± 1,37 <sup>ab</sup>     | 40,00 ± 0,39 <sup>ab</sup>     | 40,63 ± 0,82 <sup>ab</sup>    | 41,49 ± 0,71 <sup>a</sup>    | 40,96 ± 0,68 <sup>ab</sup>    |
|                 | UR2     | 37,26 ± 1,38 <sup>b</sup>    | 36,85 ± 0,51 <sup>b</sup>     | 36,01 ± 0,74 <sup>b</sup>      | 37,95 ± 0,36 <sup>b</sup>      | 41,09 ± 1,67 <sup>a</sup>      | 41,96 ± 0,93 <sup>a</sup>     | 42,50 ± 1,01 <sup>a</sup>    | 41,89 ± 0,95 <sup>a</sup>     |
|                 | UR3     | 46,95 ± 1,74 <sup>ab</sup>   | 46,58 ± 0,05 <sup>b</sup>     | 46,97 ± 0,53 <sup>ab</sup>     | 48,68 ± 0,08 <sup>ab</sup>     | 48,00 ± 1,81 <sup>ab</sup>     | 48,56 ± 1,43 <sup>ab</sup>    | 49,68 ± 0,27 <sup>a</sup>    | 49,65 ± 0,93 <sup>ab</sup>    |
|                 | BS1     | 49,85 ± 1,35 <sup>b</sup>    | 50,19 ± 1,10 <sup>b</sup>     | 50,30 ± 1,40 <sup>b</sup>      | 53,78 ± 0,06 <sup>a</sup>      | 56,29 ± 0,72 <sup>a</sup>      | 55,67 ± 1,63 <sup>a</sup>     | 56,01 ± 0,69 <sup>a</sup>    | 56,76 ± 0,51 <sup>a</sup>     |
|                 | LG1     | 60,53 ± 1,07 <sup>b</sup>    | 60,84 ± 0,66 <sup>b</sup>     | 60,66 ± 0,94 <sup>b</sup>      | 63,01 ± 1,27 <sup>ab</sup>     | 63,47 ± 0,39 <sup>ab</sup>     | 63,17 ± 0,93 <sup>ab</sup>    | 65,65 ± 1,88 <sup>a</sup>    | 65,48 ± 1,06 <sup>a</sup>     |
|                 | LG2     | 49,21 ± 1,09 <sup>b</sup>    | 48,33 ± 0,95 <sup>b</sup>     | 49,05 ± 0,52 <sup>b</sup>      | 51,93 ± 0,31 <sup>a</sup>      | 52,54 ± 0,11 <sup>a</sup>      | 53,24 ± 0,66 <sup>a</sup>     | 53,35 ± 0,24 <sup>a</sup>    | 53,72 ± 1,49 <sup>a</sup>     |
| Ácido fórmico   | UR1     | 44,66 ± 0,01 <sup>e</sup>    | 47,84 ± 1,42 <sup>de</sup>    | 51,73 ± 1,48 <sup>d</sup>      | 57,42 ± 0,34 <sup>c</sup>      | 60,20 ± 1,68 <sup>bc</sup>     | 62,40 ± 0,99 <sup>b</sup>     | 64,29 ± 0,96 <sup>b</sup>    | 84,19 ± 3,69 <sup>a</sup>     |
|                 | UR2     | 48,59 ± 0,49 <sup>f</sup>    | 49,22 ± 1,54 <sup>f</sup>     | 55,47 ± 0,40 <sup>c</sup>      | 62,56 ± 1,82 <sup>d</sup>      | 64,90 ± 1,87 <sup>cd</sup>     | 68,03 ± 2,23 <sup>c</sup>     | 72,86 ± 0,33 <sup>b</sup>    | 93,51 ± 0,22 <sup>a</sup>     |
|                 | UR3     | 42,11 ± 0,28 <sup>b</sup>    | 47,21 ± 0,15 <sup>g</sup>     | 50,62 ± 0,55 <sup>f</sup>      | 55,24 ± 0,81 <sup>e</sup>      | 58,03 ± 1,34 <sup>d</sup>      | 60,50 ± 0,93 <sup>c</sup>     | 63,01 ± 0,02 <sup>b</sup>    | 84,69 ± 1,36 <sup>a</sup>     |
|                 | BS1     | 34,40 ± 0,74 <sup>e</sup>    | 36,71 ± 0,72 <sup>c</sup>     | 36,01 ± 0,89 <sup>c</sup>      | 40,78 ± 1,85 <sup>d</sup>      | 40,73 ± 1,51 <sup>d</sup>      | 46,69 ± 1,57 <sup>c</sup>     | 52,91 ± 0,14 <sup>b</sup>    | 70,57 ± 1,41 <sup>a</sup>     |
|                 | LG1     | 60,32 ± 0,42 <sup>c</sup>    | 64,53 ± 0,01 <sup>e</sup>     | 65,63 ± 2,36 <sup>de</sup>     | 71,18 ± 2,48 <sup>cd</sup>     | 72,55 ± 0,90 <sup>c</sup>      | 76,29 ± 1,66 <sup>c</sup>     | 83,56 ± 2,02 <sup>b</sup>    | 103,06 ± 4,38 <sup>a</sup>    |
|                 | LG2     | 37,58 ± 0,28 <sup>e</sup>    | 40,97 ± 0,30 <sup>de</sup>    | 40,34 ± 1,40 <sup>de</sup>     | 44,65 ± 1,05 <sup>cd</sup>     | 44,55 ± 1,45 <sup>cd</sup>     | 48,05 ± 1,40 <sup>c</sup>     | 53,48 ± 0,80 <sup>b</sup>    | 75,92 ± 4,13 <sup>a</sup>     |
| Ácido glucônico | UR1     | 951,50 ± 23,10 <sup>d</sup>  | 1005,96 ± 24,47 <sup>cd</sup> | 1082,67 ± 23,88 <sup>bc</sup>  | 1126,09 ± 21,18 <sup>ab</sup>  | 1143,91 ± 26,63 <sup>ab</sup>  | 1155,83 ± 16,68 <sup>ab</sup> | 1173,23 ± 46,99 <sup>a</sup> | 1140,72 ± 43,76 <sup>ab</sup> |
|                 | UR2     | 904,38 ± 42,06 <sup>c</sup>  | 949,69 ± 22,02 <sup>de</sup>  | 1005,91 ± 11,89 <sup>cd</sup>  | 1058,59 ± 50,08 <sup>bc</sup>  | 1093,12 ± 35,02 <sup>abc</sup> | 1135,54 ± 23,74 <sup>ab</sup> | 1158,77 ± 36,25 <sup>a</sup> | 1109,83 ± 31,24 <sup>ab</sup> |
|                 | UR3     | 1297,54 ± 36,42 <sup>d</sup> | 1333,03 ± 30,84 <sup>cd</sup> | 1374,90 ± 16,69 <sup>bcd</sup> | 1428,15 ± 35,42 <sup>abc</sup> | 1477,64 ± 42,42 <sup>ab</sup>  | 1501,14 ± 15,51 <sup>a</sup>  | 1533,46 ± 63,68 <sup>a</sup> | 1496,03 ± 45,27 <sup>a</sup>  |
|                 | BS1     | 885,74 ± 40,79 <sup>c</sup>  | 947,30 ± 11,72 <sup>c</sup>   | 1046,77 ± 15,43 <sup>b</sup>   | 1108,73 ± 57,43 <sup>ab</sup>  | 1125,23 ± 17,42 <sup>ab</sup>  | 1153,07 ± 22,89 <sup>a</sup>  | 1179,76 ± 38,80 <sup>a</sup> | 1129,01 ± 43,12 <sup>ab</sup> |
|                 | LG1     | 930,81 ± 38,36 <sup>c</sup>  | 969,52 ± 37,04 <sup>c</sup>   | 1091,38 ± 22,61 <sup>b</sup>   | 1186,67 ± 39,39 <sup>ab</sup>  | 1199,83 ± 30,60 <sup>ab</sup>  | 1218,05 ± 23,26 <sup>a</sup>  | 1210,04 ± 63,49 <sup>a</sup> | 1189,53 ± 43,91 <sup>ab</sup> |
|                 | LG2     | 1024,37 ± 44,92 <sup>b</sup> | 1032,10 ± 33,71 <sup>b</sup>  | 1107,44 ± 20,61 <sup>ab</sup>  | 1178,22 ± 30,27 <sup>a</sup>   | 1195,19 ± 41,03 <sup>a</sup>   | 1201,69 ± 17,98 <sup>a</sup>  | 1204,62 ± 56,62 <sup>a</sup> | 1184,16 ± 33,17 <sup>a</sup>  |
| Ácido glutárico | UR1     | 17,12 ± 0,55 <sup>a</sup>    | 15,83 ± 0,39 <sup>b</sup>     | 13,95 ± 0,27 <sup>c</sup>      | 11,49 ± 0,12 <sup>d</sup>      | 9,04 ± 0,38 <sup>e</sup>       | 8,23 ± 0,39 <sup>ef</sup>     | 7,43 ± 0,21 <sup>f</sup>     | <LQ                           |
|                 | UR2     | 22,99 ± 1,10 <sup>a</sup>    | 23,16 ± 0,08 <sup>a</sup>     | 20,45 ± 0,54 <sup>b</sup>      | 18,30 ± 0,08 <sup>c</sup>      | 15,14 ± 0,33 <sup>d</sup>      | 10,11 ± 0,34 <sup>e</sup>     | 5,24 ± 0,18 <sup>f</sup>     | <LQ                           |
|                 | UR3     | 19,19 ± 0,90 <sup>a</sup>    | 18,90 ± 0,73 <sup>a</sup>     | 18,66 ± 0,31 <sup>ab</sup>     | 17,36 ± 0,64 <sup>b</sup>      | 14,56 ± 0,53 <sup>c</sup>      | 10,56 ± 0,47 <sup>d</sup>     | 5,86 ± 0,06 <sup>e</sup>     | <LQ                           |
|                 | BS1     | 16,77 ± 0,68 <sup>a</sup>    | 16,79 ± 0,18 <sup>a</sup>     | 17,15 ± 0,31 <sup>a</sup>      | 16,78 ± 0,31 <sup>a</sup>      | 13,39 ± 0,21 <sup>b</sup>      | 7,45 ± 0,28 <sup>c</sup>      | 3,98 ± 0,05 <sup>d</sup>     | <LQ                           |
|                 | LG1     | 25,54 ± 0,59 <sup>a</sup>    | 24,64 ± 0,75 <sup>a</sup>     | 22,83 ± 0,35 <sup>b</sup>      | 21,33 ± 0,14 <sup>c</sup>      | 19,64 ± 0,52 <sup>d</sup>      | 14,06 ± 0,19 <sup>e</sup>     | 7,49 ± 0,13 <sup>f</sup>     | <LQ                           |
|                 | LG2     | 13,03 ± 0,36 <sup>a</sup>    | 12,37 ± 0,06 <sup>a</sup>     | 10,29 ± 0,37 <sup>b</sup>      | 9,03 ± 0,46 <sup>c</sup>       | 8,85 ± 0,34 <sup>c</sup>       | 4,79 ± 0,16 <sup>d</sup>      | <LQ                          | <LQ                           |

Tabela 3.3 – Concentrações dos ácidos orgânicos alifáticos (mg 100 g<sup>-1</sup>) determinados em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (conclusão)

| AOA                        | Amostra | Armazenamento                |                               |                               |                               |                               |                               |                              |                               |
|----------------------------|---------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                            |         | Tempo 0                      | 4 meses – TA                  | 8 meses – TA                  | 12 meses – TA                 | 16 meses – TA                 | 20 meses – TA                 | 24 meses – TA                | 4 meses – TC                  |
| Ácido glicólico            | UR1     | 8,13 ± 0,28 <sup>b</sup>     | 8,09 ± 0,30 <sup>b</sup>      | 8,14 ± 0,10 <sup>b</sup>      | 8,29 ± 0,12 <sup>ab</sup>     | 8,48 ± 0,17 <sup>ab</sup>     | 8,56 ± 0,20 <sup>ab</sup>     | 8,74 ± 0,18 <sup>a</sup>     | 8,61 ± 0,17 <sup>ab</sup>     |
|                            | UR2     | 7,20 ± 0,08 <sup>b</sup>     | 7,27 ± 0,08 <sup>ab</sup>     | 7,31 ± 0,13 <sup>ab</sup>     | 7,27 ± 0,16 <sup>ab</sup>     | 7,53 ± 0,07 <sup>ab</sup>     | 7,54 ± 0,13 <sup>a</sup>      | 7,51 ± 0,18 <sup>ab</sup>    | 7,57 ± 0,17 <sup>a</sup>      |
|                            | UR3     | 7,60 ± 0,18 <sup>b</sup>     | 7,68 ± 0,19 <sup>ab</sup>     | 7,72 ± 0,27 <sup>ab</sup>     | 7,68 ± 0,12 <sup>ab</sup>     | 7,82 ± 0,19 <sup>ab</sup>     | 7,98 ± 0,10 <sup>ab</sup>     | 8,16 ± 0,15 <sup>a</sup>     | 8,19 ± 0,24 <sup>a</sup>      |
|                            | BS1     | 8,93 ± 0,12 <sup>c</sup>     | 8,96 ± 0,11 <sup>bc</sup>     | 8,99 ± 0,07 <sup>abc</sup>    | 9,08 ± 0,16 <sup>abc</sup>    | 9,13 ± 0,11 <sup>abc</sup>    | 9,23 ± 0,05 <sup>abc</sup>    | 9,31 ± 0,14 <sup>a</sup>     | 9,28 ± 0,13 <sup>ab</sup>     |
|                            | LG1     | 10,04 ± 0,08 <sup>b</sup>    | 10,09 ± 0,10 <sup>b</sup>     | 10,05 ± 0,13 <sup>b</sup>     | 10,05 ± 0,15 <sup>b</sup>     | 10,18 ± 0,15 <sup>ab</sup>    | 10,43 ± 0,14 <sup>ab</sup>    | 10,47 ± 0,22 <sup>ab</sup>   | 10,55 ± 0,24 <sup>a</sup>     |
|                            | LG2     | 8,29 ± 0,07 <sup>b</sup>     | 8,34 ± 0,12 <sup>ab</sup>     | 8,37 ± 0,07 <sup>ab</sup>     | 8,41 ± 0,13 <sup>ab</sup>     | 8,48 ± 0,10 <sup>ab</sup>     | 8,52 ± 0,06 <sup>ab</sup>     | 8,59 ± 0,12 <sup>a</sup>     | 8,60 ± 0,10 <sup>a</sup>      |
| Ácido láctico              | UR1     | 269,33 ± 9,06 <sup>e</sup>   | 281,61 ± 9,97 <sup>de</sup>   | 292,62 ± 3,65 <sup>cd</sup>   | 299,28 ± 13,65 <sup>bcd</sup> | 306,95 ± 6,52 <sup>abc</sup>  | 312,28 ± 4,49 <sup>abc</sup>  | 320,28 ± 19,52 <sup>a</sup>  | 314,95 ± 12,58 <sup>ab</sup>  |
|                            | UR2     | 227,37 ± 4,60 <sup>d</sup>   | 240,91 ± 4,87 <sup>cd</sup>   | 251,96 ± 9,41 <sup>bc</sup>   | 254,63 ± 4,13 <sup>bc</sup>   | 258,63 ± 11,26 <sup>abc</sup> | 263,63 ± 11,71 <sup>ab</sup>  | 273,29 ± 6,31 <sup>a</sup>   | 269,96 ± 10,50 <sup>ab</sup>  |
|                            | UR3     | 296,04 ± 5,45 <sup>c</sup>   | 306,03 ± 6,76 <sup>bc</sup>   | 318,56 ± 17,56 <sup>ab</sup>  | 321,90 ± 15,78 <sup>ab</sup>  | 328,23 ± 3,28 <sup>ab</sup>   | 333,56 ± 9,40 <sup>a</sup>    | 339,23 ± 10,78 <sup>a</sup>  | 337,90 ± 22,38 <sup>a</sup>   |
|                            | BS1     | 224,40 ± 6,42 <sup>d</sup>   | 236,08 ± 3,96 <sup>cd</sup>   | 249,47 ± 7,03 <sup>bc</sup>   | 252,13 ± 6,86 <sup>abc</sup>  | 256,80 ± 13,22 <sup>ab</sup>  | 262,13 ± 13,38 <sup>ab</sup>  | 268,80 ± 11,27 <sup>a</sup>  | 257,80 ± 14,23 <sup>ab</sup>  |
|                            | LG1     | 295,47 ± 4,63 <sup>d</sup>   | 303,74 ± 11,30 <sup>cd</sup>  | 318,92 ± 4,95 <sup>bc</sup>   | 320,25 ± 16,99 <sup>abc</sup> | 328,59 ± 10,88 <sup>ab</sup>  | 332,92 ± 11,50 <sup>ab</sup>  | 340,25 ± 11,97 <sup>a</sup>  | 333,59 ± 11,58 <sup>ab</sup>  |
|                            | LG2     | 245,16 ± 8,38 <sup>d</sup>   | 255,77 ± 0,47 <sup>cd</sup>   | 268,16 ± 10,43 <sup>bc</sup>  | 271,16 ± 16,23 <sup>bc</sup>  | 277,83 ± 13,03 <sup>ab</sup>  | 284,83 ± 14,71 <sup>ab</sup>  | 291,49 ± 6,71 <sup>a</sup>   | 284,83 ± 7,81 <sup>ab</sup>   |
| Ácido málico               | UR1     | 57,69 ± 1,78 <sup>ab</sup>   | 54,63 ± 0,05 <sup>b</sup>     | 54,80 ± 1,42 <sup>b</sup>     | 54,10 ± 0,83 <sup>b</sup>     | 56,56 ± 0,65 <sup>ab</sup>    | 57,38 ± 1,27 <sup>ab</sup>    | 59,55 ± 1,60 <sup>a</sup>    | 56,26 ± 2,29 <sup>ab</sup>    |
|                            | UR2     | 98,54 ± 0,36 <sup>ab</sup>   | 98,60 ± 0,48 <sup>ab</sup>    | 96,02 ± 3,01 <sup>b</sup>     | 100,43 ± 0,30 <sup>ab</sup>   | 102,66 ± 0,71 <sup>ab</sup>   | 103,85 ± 2,88 <sup>a</sup>    | 104,20 ± 2,90 <sup>a</sup>   | 96,53 ± 4,34 <sup>b</sup>     |
|                            | UR3     | 76,69 ± 2,93 <sup>b</sup>    | 74,04 ± 3,00 <sup>b</sup>     | 75,16 ± 2,70 <sup>b</sup>     | 80,06 ± 1,36 <sup>ab</sup>    | 80,03 ± 1,57 <sup>ab</sup>    | 85,53 ± 1,99 <sup>a</sup>     | 85,08 ± 1,83 <sup>a</sup>    | 74,57 ± 3,04 <sup>b</sup>     |
|                            | BS1     | 128,01 ± 4,13 <sup>b</sup>   | 129,52 ± 5,78 <sup>b</sup>    | 130,20 ± 0,93 <sup>b</sup>    | 133,86 ± 2,02 <sup>ab</sup>   | 140,84 ± 0,82 <sup>a</sup>    | 141,43 ± 1,46 <sup>a</sup>    | 142,25 ± 2,34 <sup>a</sup>   | 137,11 ± 6,33 <sup>ab</sup>   |
|                            | LG1     | 130,81 ± 2,08 <sup>ab</sup>  | 125,68 ± 4,08 <sup>b</sup>    | 125,23 ± 3,85 <sup>b</sup>    | 132,24 ± 1,25 <sup>ab</sup>   | 136,19 ± 5,39 <sup>a</sup>    | 136,18 ± 4,37 <sup>a</sup>    | 135,81 ± 2,83 <sup>a</sup>   | 124,58 ± 2,72 <sup>b</sup>    |
|                            | LG2     | 79,60 ± 1,65 <sup>ab</sup>   | 76,51 ± 1,69 <sup>b</sup>     | 76,33 ± 1,82 <sup>b</sup>     | 79,43 ± 1,81 <sup>ab</sup>    | 81,80 ± 2,84 <sup>ab</sup>    | 83,35 ± 2,79 <sup>a</sup>     | 83,04 ± 2,69 <sup>a</sup>    | 76,21 ± 2,40 <sup>b</sup>     |
| Ácido succínico            | UR1     | 109,38 ± 2,48 <sup>a</sup>   | 103,39 ± 4,73 <sup>a</sup>    | 105,44 ± 1,35 <sup>a</sup>    | 108,32 ± 0,06 <sup>a</sup>    | 104,42 ± 3,99 <sup>a</sup>    | 104,21 ± 4,34 <sup>a</sup>    | 102,43 ± 4,37 <sup>a</sup>   | 100,29 ± 2,96 <sup>a</sup>    |
|                            | UR2     | 115,40 ± 2,55 <sup>a</sup>   | 113,73 ± 4,10 <sup>a</sup>    | 112,67 ± 2,28 <sup>a</sup>    | 114,65 ± 2,21 <sup>a</sup>    | 115,68 ± 5,06 <sup>a</sup>    | 117,56 ± 2,45 <sup>a</sup>    | 110,53 ± 3,61 <sup>a</sup>   | 108,54 ± 3,89 <sup>a</sup>    |
|                            | UR3     | 115,33 ± 5,61 <sup>a</sup>   | 110,91 ± 0,35 <sup>a</sup>    | 115,44 ± 3,22 <sup>a</sup>    | 114,47 ± 2,74 <sup>a</sup>    | 115,05 ± 5,55 <sup>a</sup>    | 115,97 ± 2,23 <sup>a</sup>    | 112,05 ± 2,20 <sup>a</sup>   | 110,32 ± 2,50 <sup>a</sup>    |
|                            | BS1     | 156,36 ± 8,08 <sup>a</sup>   | 153,99 ± 0,24 <sup>a</sup>    | 150,65 ± 4,44 <sup>a</sup>    | 153,49 ± 6,48 <sup>a</sup>    | 157,01 ± 3,33 <sup>a</sup>    | 146,95 ± 6,03 <sup>a</sup>    | 144,44 ± 4,38 <sup>a</sup>   | 145,06 ± 2,59 <sup>a</sup>    |
|                            | LG1     | 153,83 ± 6,70 <sup>a</sup>   | 152,53 ± 5,00 <sup>a</sup>    | 151,43 ± 3,05 <sup>a</sup>    | 151,82 ± 5,00 <sup>a</sup>    | 163,42 ± 5,13 <sup>a</sup>    | 161,14 ± 3,45 <sup>a</sup>    | 158,90 ± 6,16 <sup>a</sup>   | 160,77 ± 5,04 <sup>a</sup>    |
|                            | LG2     | 111,61 ± 3,70 <sup>a</sup>   | 108,88 ± 4,60 <sup>a</sup>    | 106,55 ± 3,75 <sup>a</sup>    | 106,79 ± 4,90 <sup>a</sup>    | 113,69 ± 4,32 <sup>a</sup>    | 116,05 ± 3,35 <sup>a</sup>    | 113,83 ± 1,38 <sup>a</sup>   | 112,81 ± 1,86 <sup>a</sup>    |
| Soma dos AOA quantificados | UR1     | 1516,60 ± 35,61 <sup>c</sup> | 1576,55 ± 24,45 <sup>c</sup>  | 1669,75 ± 23,44 <sup>b</sup>  | 1727,26 ± 8,90 <sup>ab</sup>  | 1752,92 ± 17,56 <sup>a</sup>  | 1773,14 ± 16,35 <sup>a</sup>  | 1800,99 ± 59,43 <sup>a</sup> | 1770,56 ± 52,37 <sup>a</sup>  |
|                            | UR2     | 1481,91 ± 37,92 <sup>c</sup> | 1540,00 ± 23,13 <sup>de</sup> | 1606,93 ± 15,07 <sup>cd</sup> | 1676,15 ± 54,55 <sup>bc</sup> | 1722,17 ± 44,05 <sup>ab</sup> | 1770,93 ± 31,85 <sup>a</sup>  | 1795,82 ± 38,43 <sup>a</sup> | 1751,46 ± 25,21 <sup>ab</sup> |
|                            | UR3     | 1922,48 ± 32,71 <sup>d</sup> | 1965,38 ± 38,97 <sup>d</sup>  | 2029,69 ± 16,62 <sup>cd</sup> | 2095,83 ± 48,11 <sup>bc</sup> | 2157,49 ± 46,38 <sup>ab</sup> | 2185,90 ± 22,16 <sup>ab</sup> | 2213,96 ± 56,47 <sup>a</sup> | 2185,04 ± 61,40 <sup>ab</sup> |
|                            | BS1     | 1525,51 ± 58,86 <sup>c</sup> | 1601,14 ± 15,23 <sup>c</sup>  | 1711,97 ± 16,84 <sup>b</sup>  | 1792,01 ± 57,79 <sup>ab</sup> | 1823,97 ± 35,05 <sup>a</sup>  | 1847,47 ± 23,76 <sup>a</sup>  | 1882,14 ± 48,63 <sup>a</sup> | 1831,20 ± 35,95 <sup>a</sup>  |
|                            | LG1     | 1685,04 ± 47,35 <sup>c</sup> | 1729,67 ± 49,42 <sup>c</sup>  | 1864,85 ± 22,83 <sup>b</sup>  | 1975,75 ± 54,42 <sup>ab</sup> | 2013,59 ± 19,46 <sup>a</sup>  | 2033,29 ± 21,06 <sup>a</sup>  | 2033,18 ± 83,79 <sup>a</sup> | 2008,83 ± 39,89 <sup>a</sup>  |
|                            | LG2     | 1579,57 ± 41,90 <sup>c</sup> | 1594,34 ± 31,72 <sup>c</sup>  | 1677,99 ± 34,38 <sup>bc</sup> | 1761,85 ± 42,80 <sup>ab</sup> | 1797,39 ± 45,57 <sup>a</sup>  | 1812,96 ± 34,57 <sup>a</sup>  | 1822,11 ± 52,49 <sup>a</sup> | 1809,96 ± 29,10 <sup>a</sup>  |

Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; AOA – ácidos orgânicos alifáticos; LQ – limite de quantificação; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão;  $n = 3$ ; <sup>a-h</sup> Letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) pelo teste de *Tukey*.

**Fonte:** Próprio autor (2019).

Nesse estudo, 13 AOA foram investigados nos méis de melato de bracatinga durante a estocagem. Em todas as amostras, os ácidos maleico, tartárico e propiônico não foram detectados (abaixo dos limites de detecção), enquanto o ácido malônico apresentou-se abaixo do limite de quantificação nas amostras no tempo zero e, abaixo do limite de detecção nas demais amostras.

Conforme apresentado na Tabela 3.3, nove AOA foram quantificados nos méis estocados. De maneira geral, nos méis de melato de bracatinga no tempo zero, os AOA foram encontrados na seguinte ordem de concentração: ácido glucônico > ácido láctico > ácido succínico > ácido málico > ácido cítrico > ácido fórmico > ácido glutárico > ácido acético > ácido glicólico.

O ácido glucônico é o AOA majoritário em méis sendo formado a partir da conversão da D-glicose por meio da ação da enzima glicose-oxidase, presente na glândula hipofaríngea das abelhas, e/ou pela ação da bactéria *Gluconobacter* spp., a qual está presente no intestino da abelha (BRUGNEROTTO et al., 2019; CHERCHI et al., 1994; MATO et al., 2003). Dessa forma, as altas concentrações desse AOA nos méis de melato de bracatinga ( $885,74 \pm 40,79$  a  $1297,54 \pm 36,42$  g 100 g<sup>-1</sup>), representando cerca de 60 % do total dos AOA quantificados, era esperada e está de acordo com relatos prévios da literatura para méis de melato como de bracatinga, *Quercus* e *Pinus*, onde esse AOA foi responsável por 55 a 89 % do total de AOA quantificados (BRUGNEROTTO et al., 2019; NOZAL et al., 2003; TEZCAN et al., 2011).

Outro importante AOA encontrado no mel de melato de bracatinga é o ácido láctico, representando cerca de 15 % do total dos AOA quantificados. A presença desse AOA é pouco relatada em méis, porém esse composto é um importante AOA presente em méis de melato de bracatinga (representando de 11 a 16 % do total de ácidos orgânicos quantificados) (BRUGNEROTTO et al., 2019). A presença desse AOA no mel de melato de bracatinga pode estar associado à ocorrência de fermentação natural desse produto, promovido por bactérias lácticas oriundas do estômago das abelhas (BRUGNEROTTO et al., 2019; OLOFSSON; VÁSQUEZ, 2008). No entanto, o exsudato também pode ser uma potencial fonte de ácido láctico e/ou de bactérias lácticas.

A presença de ácido acético em méis está fortemente relacionada à ocorrência de processo de fermentação pós-colheita promovidos pela ação de microrganismos osmotolerantes sobre os açúcares redutores do mel (CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006; SERAGLIO et al., 2019). Entretanto, esse AOA foi encontrado em baixas concentrações nesse estudo (0,7 a 1,4 % do total dos AOA quantificados), mesmo comportamento reportado previamente para esse tipo de mel (0,6 a 1,4 % do total de ácidos orgânicos quantificados) (BRUGNEROTTO et al., 2019).

Dessa forma, é possível considerar que os méis de melato de bracinga eram méis frescos e não estavam aparentemente em processo de fermentação pós-colheita.

Considerando que os AOA podem ser formados ou degradados por diferentes vias (CHERCHI et al., 1994; CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006; OLOFSSON; VÁSQUEZ, 2008; SHAPLA et al., 2018), mudanças no perfil e concentração dos AOA investigados nesse estudo são esperadas durante as condições de estocagem avaliadas.

Em relação à estocagem dos méis de melato de bracinga em temperatura ambiente, é possível sugerir o ácido succínico como um AOA estável em tempos prolongados de armazenamento. Os ácidos cítrico, málico e glicólico também se apresentaram estáveis, com leve tendência de aumento das suas concentrações conforme o avanço do tempo de estocagem. Um aumento mais pronunciado na concentração dos ácidos acético, láctico e glucônico com a estocagem prolongada foi verificada especialmente até o oitavo mês, seguido de uma certa estabilização de seu comportamento, correspondendo a acréscimos de até 19,9, 20,2 e 33,2 %, respectivamente. Entretanto, para o ácido fórmico, o aumento na sua concentração ao longo da estocagem foi mais intenso, correspondendo a até 53,8 %. Em contrapartida, o ácido glutárico se mostrou sensível a estocagem prolongada em temperatura ambiente, decrescendo as suas concentrações em até quatro vezes, quando comparados às concentrações encontradas no tempo zero.

A estocagem das amostras à temperatura controlada de 40 °C por quatro meses resultou em um comportamento similar para a maioria dos AOA ao observado na estocagem prolongada em temperatura ambiente. Nessa condição de estocagem, o ácido succínico se manteve estável e os ácidos cítrico e glicólico mativeram a tendência de leve aumento das suas concentrações, especialmente quando comparados aos valores encontrados no tempo zero. Entretanto, o ácido málico apresentou leve tendência de decréscimo da sua concentração quando comparado especialmente aos méis estocados a temperatura ambiente após 16 meses de estocagem. A estocagem a uma temperatura alta levou ao aumento da concentração dos ácidos láctico e glucônico, principalmente quando comparadas às concentrações encontradas no tempo zero e nos méis estocados a temperatura ambiente até o quarto mês, correspondendo a aumentos de até 18,7 e 27,8 %, respectivamente. Esse mesmo comportamento foi observado para o ácido acético, onde a concentração observada foi maior nessa condição de estocagem quando comparado principalmente com as concentrações encontradas no tempo zero e nos méis estocados à temperatura ambiente até o décimo sexto mês, correspondendo a incrementos de até 27,9 %. Dentre os AOA investigados, a estocagem em temperatura controlada de 40 °C por quatro meses demonstra ter afetado de forma mais intensa o comportamento dos ácidos fórmico

e glutárico. Em relação ao ácido fórmico, um aumento de até 100 % quando comparado aos valores encontrados no tempo zero e de até 42 % quando confrontado aos valores referentes à estocagem em temperatura ambiente por 24 meses. O ácido glutárico também se mostrou sensível à estocagem em temperatura alta, apresentando concentrações abaixo do limite de quantificação ( $3,96 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ) em todas as amostras estudadas.

Nesse contexto, considerando os resultados encontrados, é possível sugerir que os ácidos succínico, cítrico, málico e glicólico foram pouco afetados pela estocagem prolongada ou aquecimento prolongado das amostras de mel de melato de bracatinga avaliadas nesse estudo. Em contrapartida, o ácido glutárico se mostrou suscetível às condições de estocagem estudadas, especialmente ao aquecimento prolongado do mel de melato de bracatinga. Sendo assim, este AOA pode ser recomendado como um potencial marcador de aquecimento prolongado desse tipo de mel, assim como o 5-HMF é considerado. Em relação aos ácidos láctico, glucônico e acético, o aumento das suas concentrações em ambas as condições de estocagem estudadas pode ser considerado relativamente baixo, porém indicam a atividade enzimática natural do mel (como ação da glicose-oxidase) e/ou de microrganismos (como leveduras e bactérias lácticas) especialmente sobre os açúcares do mel na formação desses AOA (BRUGNEROTTO et al., 2019; CHERCHI et al., 1994; CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006; MATO et al., 2003; OLOFSSON; VÁSQUEZ, 2008). Com relação ao ácido fórmico, o aumento acentuado dessa substância pode estar atrelado à sua formação a partir da reidratação do 5-HMF, uma vez que o aumento do teor de 5-HMF em méis estocados ou aquecidos é frequentemente reportado (FECHNER et al., 2016; RUFÍÁN-HENARES; PASTORIZA, 2016; SHAPLA et al., 2018).

É importante destacar também que o aumento na soma dos AOA quantificados nos méis estocados pode ser sugerido como importante fator relacionado ao aumento da acidez livre e ao decréscimo dos valores de pH encontrados nesse estudo. De fato, uma correlação significativa foi encontrada entre os ácidos glutárico, glicólico, fórmico, acético, glucônico, láctico e cítrico e a acidez livre, acidez em lactona e pH (Anexo D), confirmando a influência desses compostos no comportamento da acidez e pH dos méis estocados.

Apesar da correlação significativa observada entre a acidez e o ácido acético, ainda é possível sugerir que o aumento da acidez livre não parece estar associado à perda da qualidade dos méis de melato de bracatinga devido a fermentação pós-colheita. Essa hipótese é sustentada pelo fato de que o ácido acético foi responsável por, no máximo, 1,4 % do total de AOA quantificados. Esses dados são muito importantes, uma vez que o aumento do teor de ácido acético em méis armazenados está frequentemente relacionado à fermentação pós-colheita e ao comprometimento sensorial do produto (CASTRO-VÁSQUEZ et al., 2008, 2012).

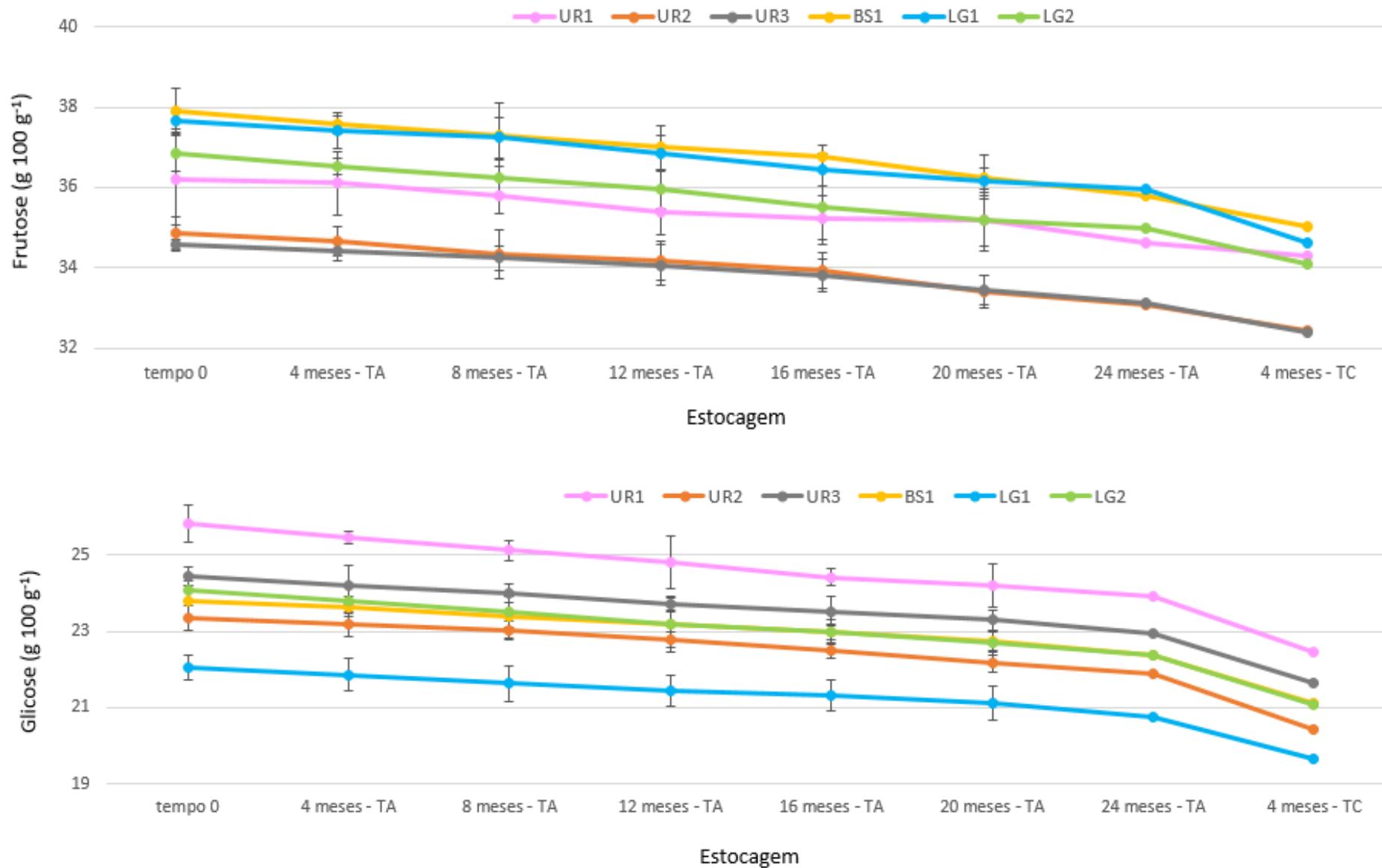
Portanto, esses achados são de suma importância a fim possibilitar um melhor entendimento quanto à qualidade do mel de melato de bracatinga, além de contribuir com dados inéditos relacionados aos efeitos produzidos pelo armazenamento do mel em determinadas condições sobre o seu perfil e concentração de AOA, uma vez que apenas alguns relatos são encontrados na literatura e que estão relacionados aos AOA voláteis específicos, principalmente o ácido acético.

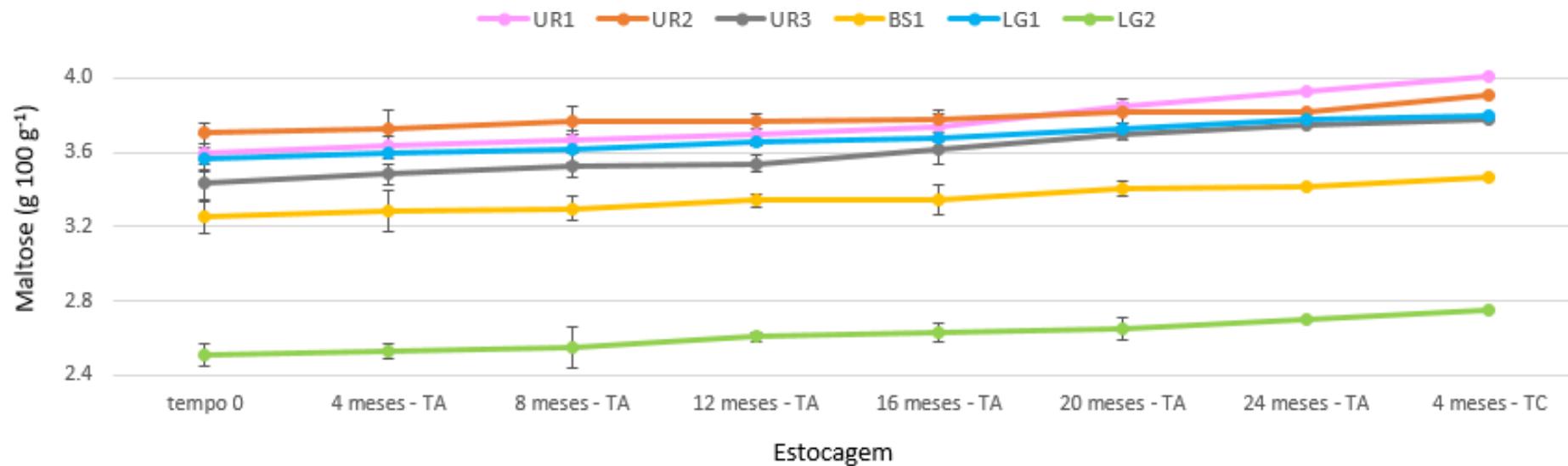
### 3.4 Açúcares

Os carboidratos são os principais constituintes dos méis de melato. Os monossacarídeos frutose e glicose são os açúcares predominantes, mas a presença de outros carboidratos, especialmente dissacarídeos e trissacarídeos, são frequentemente reportados nesses méis (CAN et al., 2015; ESCUREDO et al., 2014; KARABAGIAS et al., 2018; PASCUAL-MATÉ et al., 2018).

Na Figura 3.4 (e Anexo E), o teor dos açúcares quantificados nos méis de melato de bracatinga durante o seu armazenamento são apresentados.

Figura 3.4 – Concentrações de frutose, glicose e maltose em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento





Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ .

Fonte: Próprio autor (2019).

Nesse estudo, nove açúcares foram investigados nos méis de melato de bracinga durante o seu armazenamento. Dentre esses compostos, seis açúcares (xilose, ramnose, celobiose, sacarose, rafinose e melezitose) não foram detectados em nenhuma das amostras (abaixo dos limites de detecção).

Conforme observado na Figura 3.4, três compostos foram quantificados nos méis estocados, sendo a frutose o açúcar majoritário, seguido da glicose e da maltose. Nas amostras no tempo zero, o teor de frutose variou de  $34,57 \pm 0,43$  a  $37,89 \pm 0,57$  g 100 g<sup>-1</sup>, a glicose variou de  $22,05 \pm 0,24$  a  $25,82 \pm 0,49$  g 100 g<sup>-1</sup>, enquanto a maltose variou de  $2,51 \pm 0,03$  a  $3,71 \pm 0,04$  g 100 g<sup>-1</sup>. Os teores encontrados para esses açúcares estão em concordância com os reportados para méis de melato como de *Quercus robur*, *Pinus* e *Mimosa scabrella*, os quais variaram de  $33,4 \pm 2,5$  a  $43,3 \pm 2,2$  g 100 g<sup>-1</sup> para a frutose, de  $20,8 \pm 0,06$  a  $26,7 \pm 1,2$  g 100 g<sup>-1</sup> para a glicose e até  $4,3 \pm 1,2$  g 100 g<sup>-1</sup> para a maltose (BERGAMO et al., 2019a; CAN et al., 2015; PASCUAL-MATÉ et al., 2018).

Ainda, conforme apresentado no Anexo E, a soma dos açúcares quantificados (açúcares redutores) variou de  $61,92 \pm 0,87$  a  $65,64 \pm 1,56$  g 100 g<sup>-1</sup> e a soma da frutose e glicose variou de  $58,22 \pm 0,85$  a  $62,04 \pm 1,63$  a g 100 g<sup>-1</sup>, demonstrando que esses méis estão de acordo com as exigências previstas para méis de melato por organizações regulamentadoras como a legislação brasileira (limite mínimo de 60 g 100 g<sup>-1</sup> de açúcares redutores) e européia (limite mínimo de 45 g 100 g<sup>-1</sup> para soma da frutose e glicose) (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002), sugerindo que esses méis passaram pelo tempo de maturação adequada.

Em alguns estudos, a presença de outros carboidratos em méis de melato é reportada. Dentre esses compostos, a melezitose pode ser destacada, uma vez que é um dos açúcares que vem sendo relacionado aos méis de melato. Entretanto, no presente estudo não foi verificada a presença desse trissacarídeo. Baixos teores ou a ausência desse açúcar também foi observada em méis de melato como da Turquia, da Espanha e da Romênia (CAN et al., 2015; ESCUREDO et al., 2013, 2014; MANZANARES et al., 2011; RODRÍGUEZ-FLORES et al., 2019), concordando com os resultados encontrados nesse trabalho.

Outro açúcar presente em méis e importante em sua composição é a sacarose. Baixos teores desse carboidrato, normalmente de até 3,5 g 100 g<sup>-1</sup>, são frequentemente observados em méis de melato. Portanto, a ausência desse açúcar nas amostras de mel de melato de bracinga corrobora com o comportamento já reportado para outros méis de melato (BERGAMO et al., 2019a; CAN et al., 2015; KARABAGIAS et al., 2018; NAYIK et al., 2018). Ainda, o teor de sacarose é outro parâmetro considerado indicador da maturidade de méis com limites previstos

por organizações regulamentadoras como a legislação brasileira (limite máximo de 15 g 100 g<sup>-1</sup>) e europeia (limite máximo de 5 g 100 g<sup>-1</sup>) (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002). Dessa forma, em conjunto com os resultados observados para a umidade e açúcares redutores, é possível assumir então que os méis de melato de bracatinga avaliados eram méis maduros.

Sabe-se que diversos são os fatores que podem influenciar o perfil e a concentração de açúcares de um determinado tipo de mel. Alguns exemplos são a origem botânica e geográfica, a ação de enzimas sobre os carboidratos, bem como as condições de processamento e estocagem (DE LA FUENTE et al., 2011; DOBRE et al., 2012). Dessa forma, a influência das condições de estocagem estudadas frente aos açúcares (Figura 3.4 e Anexo E) são descritas a seguir.

Com relação a estocagem dos méis à temperatura ambiente, uma tendência de decréscimo nos teores de frutose e glicose foi observada em méis armazenados nessa condição ao longo de 24 meses. Esses decréscimos foram  $\leq 5,5$  % para a frutose e  $\leq 7,4$  % para a glicose. Em contrapartida, a concentração de maltose aumentou significativamente (até 9,2 %) ao longo de 24 meses em temperatura ambiente.

Esses mesmos achados foram observados nos méis estocados a temperatura controlada de 40 °C por quatro meses, mas de forma mais intensa. Os decréscimos nos teores de frutose e glicose foram de até 8,0 e 13,1 %, respectivamente, quando comparados aos encontrados no tempo zero, e de até 3,6 e 6,6 %, respectivamente, quando confrontados com os teores observados após 24 meses de armazenamento a temperatura ambiente. Em relação ao teor de maltose nas amostras estocadas na condição de alta temperatura (40 °C), um aumento de até 11,4 e 2,4 % foi verificado quando comparado à concentração encontrada no tempo zero e após 24 meses de armazenamento em temperatura ambiente, respectivamente.

Como consequência, a estocagem dos méis de melato de bracatinga à temperatura ambiente ao longo de 24 meses e temperatura controlada de 40 °C por 4 meses resultou em decréscimos na soma dos açúcares quantificados ( $56,78 \pm 1,17$  a  $65,20 \pm 0,63$  g 100 g<sup>-1</sup>) e na soma da frutose e glicose ( $52,88 \pm 1,10$  a  $61,56 \pm 0,70$  g 100 g<sup>-1</sup>). Considerando o limite estabelecido pela legislação brasileira e os resultados encontrados para a soma dos açúcares quantificados (açúcares redutores), observou-se que os méis de melato de bracatinga estocados a temperatura controlada de 40 °C por 4 meses e, em alguns casos, os méis estocados a temperatura ambiente principalmente após 20 meses de armazenamento, tendem a apresentar teores de açúcares redutores inferiores ao preconizado.

Alguns estudos também têm observado uma tendência de diminuição na concentração de monossacarídeos e aumento no teor de oligossacarídeos ao longo do armazenamento de méis,

sendo as maiores alterações observadas comumente quando temperaturas mais altas são empregadas. Em méis florais e de melato da Turquia armazenados por 9 meses a 4 °C, temperatura ambiente (não especificada) e 35 °C, as maiores mudanças na concentração dos açúcares foram verificadas nos méis estocados a 35 °C, com decréscimos de até 6,4 % na concentração de monossacarídeos e aumentos de até 73,2 % na concentração de dissacarídeos e trissacarídeos (HISIL; BAGDATLIOGLU, 1994). Essa mesma tendência foi observada em mel floral cítrico da Espanha estocados por 12 meses a 10, 20 e 40 °C. As mudanças mais intensas na concentração de monossacarídeos e dissacarídeos foram observadas na maioria das vezes no mel estocado a 40 °C, atingindo decréscimos de até 25,2 % no teor de monossacarídeos e aumentos de cerca de um a cinco vezes o teor de dissacarídeos (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008). Para méis florais e de melato da Polônia estocados por seis meses a 4 e 20 °C, mudanças mais sutis foram reportadas para os monossacarídeos, com decréscimos de até 2,5 %, e uma tendência de aumento da concentração de dissacarídeos e trissacarídeos foi observada. Nesse estudo, a influência da temperatura de estocagem sobre os açúcares também foi percebida (RYBAK-CHMIELEWSKA, 2007).

A combinação de diferentes fatores pode favorecer a redução do teor de monossacarídeos e o aumento do teor de oligossacarídeos em méis submetidos a diferentes condições de armazenamento. A alta concentração de monossacarídeos redutores aliada à alta acidez dos méis são alguns dos fatores que favorecem a ocorrência de reações de degradação de açúcares, os quais podem resultar na diminuição do teor de monossacarídeos, bem como estimular a ocorrência de reações não-enzimáticas de transglicosilação, levando a redução do teor de monossacarídeos e aumento de oligossacarídeos em méis armazenados (AL-GHAMDI et al., 2019; CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008; SILVA et al., 2019b). A formação de oligossacarídeos pela ação enzimática de glicosidases naturalmente presentes nos méis também é um processo que pode ocorrer (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008; HISIL; BAGDATLIOGLU, 1994). Ainda, a redução do teor dos monossacarídeos pode estar atrelada também à ação de enzimas próprias do mel e/ou de microrganismos sobre esses compostos, resultando no aumento do teor de alguns AOA (CHERCHI et al., 1994; CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006; OLOFSSON; VÁSQUEZ, 2008), como observado nesse estudo.

A provável ocorrência dessas reações nos méis estocados é sustentada pela correlação significativa (Anexo D) observada entre frutose-glicose (0,984), frutose-maltose (-0,992) e maltose-glicose (-0,957). Adicionalmente, a influência da característica ácida dos méis estocados sobre os açúcares também pode ser sugerida devido à correlação significativa (Anexo D) verificada entre esses açúcares e a acidez livre, acidez em lactona, pH e presença de vários

AOA. É interessante destacar também que a correlação significativa (Anexo D) observada entre esses açúcares e 5-HMF e vários AOA indicam a ocorrência de reações de degradação de açúcares bem como da ação de enzimas e/ou microrganismos sobre esses compostos.

Portanto, as condições de estocagem aplicadas ao mel de melato de bracatinga resultaram em alterações na concentração dos açúcares e, especialmente na estocagem em temperatura alta e, após 20 meses de armazenamento em temperatura ambiente, na não conformidade de algumas amostras de méis à legislação brasileira.

### 3.5 Aminoácidos

Os aminoácidos são normalmente encontrados em concentrações baixas (até 1%) em méis florais e de melato (AZEVEDO et al., 2017b; KARABAGIAS et al., 2018; KIVRAK, 2015; SILICI; KARAMAN, 2014). No entanto, estes compostos vêm sendo explorados principalmente na discriminação botânica e/ou geográfica de méis, além de contribuir de forma significativa em atividades biológicas (AZEVEDO et al., 2017b; CHUA; ADNAN, 2014; KOWALSKI et al., 2017; PÉREZ et al., 2007).

No presente estudo, o monitoramento dos aminoácidos ácido aspártico e ácido glutâmico foi realizado nos méis de melato de bracatinga durante a sua estocagem, sendo os seus teores apresentados na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Concentrações de aminoácidos (mg 100 g<sup>-1</sup>) quantificados em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento

| Amino-ácido                         | Amostra | Armazenamento              |                            |                             |                             |                             |                            |                            |                           |
|-------------------------------------|---------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                                     |         | Tempo 0                    | 4 meses – TA               | 8 meses – TA                | 12 meses – TA               | 16 meses – TA               | 20 meses – TA              | 24 meses – TA              | 4 meses – TC              |
| Ácido aspártico                     | UR1     | 31,34 ± 0,48 <sup>a</sup>  | 30,57 ± 0,59 <sup>ab</sup> | 29,41 ± 1,03 <sup>abc</sup> | 29,32 ± 0,35 <sup>abc</sup> | 28,97 ± 0,39 <sup>bc</sup>  | 27,90 ± 0,27 <sup>c</sup>  | 27,40 ± 1,01 <sup>c</sup>  | 23,28 ± 1,09 <sup>d</sup> |
|                                     | UR2     | 35,07 ± 0,06 <sup>a</sup>  | 34,75 ± 1,02 <sup>a</sup>  | 32,29 ± 1,23 <sup>b</sup>   | 32,13 ± 0,24 <sup>bc</sup>  | 30,13 ± 1,29 <sup>bcd</sup> | 29,78 ± 0,79 <sup>cd</sup> | 28,17 ± 0,69 <sup>d</sup>  | 28,19 ± 0,75 <sup>d</sup> |
|                                     | UR3     | 21,03 ± 0,31 <sup>a</sup>  | 19,21 ± 0,21 <sup>b</sup>  | 18,86 ± 0,70 <sup>b</sup>   | 17,31 ± 0,34 <sup>c</sup>   | 14,48 ± 0,61 <sup>d</sup>   | 14,28 ± 0,53 <sup>d</sup>  | 13,17 ± 0,47 <sup>de</sup> | 12,14 ± 0,57 <sup>e</sup> |
|                                     | BS1     | 33,53 ± 0,36 <sup>a</sup>  | 33,55 ± 0,56 <sup>a</sup>  | 32,28 ± 0,20 <sup>ab</sup>  | 30,50 ± 0,97 <sup>bc</sup>  | 29,32 ± 0,84 <sup>cd</sup>  | 28,49 ± 1,21 <sup>cd</sup> | 27,74 ± 0,84 <sup>de</sup> | 25,85 ± 0,84 <sup>e</sup> |
|                                     | LG1     | 44,79 ± 1,43 <sup>a</sup>  | 42,81 ± 0,51 <sup>ab</sup> | 42,08 ± 0,24 <sup>abc</sup> | 41,87 ± 1,99 <sup>bcd</sup> | 39,37 ± 0,72 <sup>cd</sup>  | 39,23 ± 0,55 <sup>d</sup>  | 39,11 ± 0,96 <sup>d</sup>  | 36,20 ± 0,16 <sup>e</sup> |
|                                     | LG2     | 29,13 ± 1,05 <sup>a</sup>  | 28,08 ± 0,98 <sup>ab</sup> | 27,53 ± 1,08 <sup>ab</sup>  | 27,27 ± 0,05 <sup>ab</sup>  | 26,42 ± 0,75 <sup>bc</sup>  | 24,83 ± 0,66 <sup>cd</sup> | 24,64 ± 0,18 <sup>cd</sup> | 22,80 ± 0,62 <sup>d</sup> |
| Ácido glutâmico                     | UR1     | 57,08 ± 2,62 <sup>a</sup>  | 46,69 ± 1,10 <sup>b</sup>  | 28,41 ± 0,13 <sup>c</sup>   | 23,64 ± 0,72 <sup>d</sup>   | 19,68 ± 0,96 <sup>e</sup>   | 18,47 ± 0,48 <sup>ef</sup> | 15,87 ± 0,53 <sup>f</sup>  | <LQ                       |
|                                     | UR2     | 77,37 ± 3,85 <sup>a</sup>  | 66,63 ± 0,09 <sup>b</sup>  | 44,37 ± 0,48 <sup>c</sup>   | 38,95 ± 1,21 <sup>d</sup>   | 32,67 ± 0,65 <sup>e</sup>   | 22,14 ± 0,85 <sup>f</sup>  | 12,08 ± 0,15 <sup>g</sup>  | <LQ                       |
|                                     | UR3     | 73,58 ± 3,67 <sup>a</sup>  | 60,95 ± 2,75 <sup>b</sup>  | 40,55 ± 1,69 <sup>c</sup>   | 34,68 ± 1,64 <sup>d</sup>   | 29,32 ± 0,09 <sup>e</sup>   | 21,81 ± 0,88 <sup>f</sup>  | 9,36 ± 0,30 <sup>g</sup>   | <LQ                       |
|                                     | BS1     | 68,44 ± 2,15 <sup>a</sup>  | 56,84 ± 1,64 <sup>b</sup>  | 42,05 ± 1,44 <sup>c</sup>   | 31,31 ± 1,22 <sup>d</sup>   | 26,37 ± 0,45 <sup>e</sup>   | 17,21 ± 0,67 <sup>f</sup>  | 9,53 ± 0,39 <sup>g</sup>   | <LQ                       |
|                                     | LG1     | 92,31 ± 2,18 <sup>a</sup>  | 81,96 ± 1,54 <sup>b</sup>  | 62,05 ± 0,85 <sup>c</sup>   | 49,03 ± 0,77 <sup>d</sup>   | 35,78 ± 1,17 <sup>e</sup>   | 24,89 ± 0,71 <sup>f</sup>  | 13,21 ± 0,41 <sup>g</sup>  | <LQ                       |
|                                     | LG2     | 61,66 ± 2,61 <sup>a</sup>  | 49,30 ± 0,86 <sup>b</sup>  | 36,23 ± 1,52 <sup>c</sup>   | 28,47 ± 1,02 <sup>d</sup>   | 22,59 ± 0,95 <sup>e</sup>   | 14,48 ± 0,35 <sup>f</sup>  | 7,87 ± 0,12 <sup>g</sup>   | <LQ                       |
| Soma dos amino-ácidos quantificados | UR1     | 88,42 ± 2,11 <sup>a</sup>  | 77,26 ± 2,11 <sup>b</sup>  | 57,82 ± 0,90 <sup>c</sup>   | 52,96 ± 0,24 <sup>d</sup>   | 48,65 ± 0,74 <sup>e</sup>   | 46,38 ± 0,72 <sup>e</sup>  | 43,27 ± 0,26 <sup>f</sup>  | 23,28 ± 1,09 <sup>g</sup> |
|                                     | UR2     | 112,44 ± 4,13 <sup>a</sup> | 101,38 ± 0,71 <sup>b</sup> | 76,66 ± 0,24 <sup>c</sup>   | 71,08 ± 0,19 <sup>d</sup>   | 62,80 ± 0,59 <sup>e</sup>   | 51,92 ± 1,94 <sup>f</sup>  | 40,25 ± 1,14 <sup>g</sup>  | 28,19 ± 0,75 <sup>h</sup> |
|                                     | UR3     | 94,61 ± 4,11 <sup>a</sup>  | 80,15 ± 2,18 <sup>b</sup>  | 59,41 ± 0,99 <sup>c</sup>   | 51,98 ± 1,85 <sup>d</sup>   | 43,80 ± 0,41 <sup>e</sup>   | 36,10 ± 1,20 <sup>f</sup>  | 22,53 ± 0,23 <sup>g</sup>  | 12,14 ± 0,57 <sup>h</sup> |
|                                     | BS1     | 101,97 ± 2,87 <sup>a</sup> | 90,38 ± 0,81 <sup>b</sup>  | 74,33 ± 1,65 <sup>c</sup>   | 61,81 ± 0,66 <sup>d</sup>   | 55,69 ± 0,81 <sup>e</sup>   | 45,70 ± 1,64 <sup>f</sup>  | 37,27 ± 0,82 <sup>g</sup>  | 25,85 ± 0,84 <sup>h</sup> |
|                                     | LG1     | 137,09 ± 1,75 <sup>a</sup> | 124,77 ± 2,49 <sup>b</sup> | 104,13 ± 1,04 <sup>c</sup>  | 90,90 ± 1,01 <sup>d</sup>   | 75,15 ± 2,60 <sup>e</sup>   | 64,12 ± 2,56 <sup>f</sup>  | 52,32 ± 0,32 <sup>g</sup>  | 36,20 ± 0,16 <sup>h</sup> |
|                                     | LG2     | 90,79 ± 3,00 <sup>a</sup>  | 77,39 ± 0,68 <sup>b</sup>  | 63,76 ± 1,47 <sup>c</sup>   | 55,74 ± 0,06 <sup>d</sup>   | 49,01 ± 1,99 <sup>e</sup>   | 39,32 ± 0,64 <sup>f</sup>  | 32,51 ± 0,62 <sup>g</sup>  | 22,80 ± 0,62 <sup>h</sup> |

Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; LQ – limite de quantificação; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; Resultados expressos como média ± desvio padrão;  $n = 3$ ; <sup>a-h</sup> Letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor (2019).

Conforme apresentado na Tabela 3.4, o ácido glutâmico foi encontrado em concentrações cerca de 2 a 4,5 vezes superiores ao teor encontrado para o ácido aspártico nos méis de melato de bracinga no tempo zero. Esse mesmo comportamento foi reportado previamente em méis de melato de bracinga, sendo esses compostos uns dos principais aminoácidos encontrados nesse tipo de mel (AZEVEDO et al., 2017a). Ainda, os teores encontrados para esses aminoácidos no presente estudo estão em concordância com os teores reportados para méis de melato procedentes do Brasil, da Espanha e da Itália, os quais variaram de  $11,0 \pm 3,0$  a  $145,0 \pm 34,0$  mg  $100\text{ g}^{-1}$  para o ácido glutâmico e de  $2,1$  a  $45,0 \pm 7,0$  mg  $100\text{ g}^{-1}$  para o ácido aspártico (AZEVEDO et al., 2017a; IGLESIAS et al., 2006; PÉREZ et al., 2007).

Em ambas as condições de estocagem estudadas, os aminoácidos monitorados se mostraram suscetíveis à estocagem prolongada e armazenamento em temperatura alta. Um decréscimo gradual na concentração do ácido aspártico foi observado ao longo dos 24 meses de estocagem a temperatura ambiente, alcançando percentuais de decréscimo de até 37,4 %. Em relação ao ácido glutâmico, os decréscimos foram mais intensos, chegando a 87,3 %. Em relação aos méis estocados em temperatura controlada de 40 °C por quatro meses, o decréscimo na concentração do ácido glutâmico foi mais pronunciado ainda, passando a apresentar valores abaixo do limite de quantificação ( $4,41$  mg  $100\text{ g}^{-1}$ ). Para o ácido aspártico, os decréscimos foram menos intensos, correspondendo a 42,3% quando comparado ao teor encontrado no tempo zero, e a 15,0% quando confrontado com o teor verificado após 24 meses de estocagem a temperatura ambiente.

O comportamento dos aminoácidos investigados nesse estudo nos méis de melato de bracinga armazenados corroboram com relatos da literatura. Apesar dos poucos estudos, é sugerido que ocorra a redução da concentração da maioria dos aminoácidos ao longo da estocagem de méis. Em méis florais e de melato da Espanha estocados por 12 meses a 25 e 35 °C, o teor dos aminoácidos livres investigados decresceu na maioria das amostras e foi intensificado com o aumento da temperatura de estocagem. Os decréscimos chegaram a até 84,9 % para o ácido aspártico e até 97,5 % para o ácido glutâmico (SANZ et al., 2003). Esse mesmo comportamento foi reportado em outro estudo onde méis florais, *blends* e méis de melato da Espanha foram estocados por 24 meses a temperatura ambiente (não especificado). Independentemente do tipo de mel, o teor de aminoácidos livres totais e de grande parte dos aminoácidos individuais investigados, principalmente o ácido glutâmico, arginina e glutamina, decresceram com o tempo de armazenamento, especialmente nos nove primeiros meses, seguido de certa estabilização nos meses seguintes (redução de cerca de 50 %). Para o ácido aspártico,  $\beta$ -alanina e prolina um comportamento distinto foi observado, ocorrendo um aumento

na concentração desses aminoácidos até o sexto mês de estocagem, seguido de decréscimo (IGLESIAS et al., 2006). Sendo assim, os resultados encontrados no presente estudo são importantes uma vez que permitem sugerir o ácido glutâmico como indicador de tempos prolongados de armazenamento, em temperatura ambiente, ou de aquecimento, função que pertence ao 5-HMF e atividade diastásica.

O decréscimo do teor de aminoácidos em méis estocados é relacionado ao envolvimento desses compostos na reação de Maillard com a formação de diversos produtos intermediários como os 2-furosilmetil-aminoácidos e o 5-HMF (IGLESIAS et al., 2006; SANZ et al., 2003). Considerando o decréscimo no teor dos aminoácidos investigados e especialmente da glicose, além da alta acidez do mel de melato de bracatinga, a formação de compostos de degradação oriundos da reação de Maillard ao longo da estocagem desse mel pode ser proposta. Essa hipótese é sustentada pela correlação significativa verificada entre esses aminoácidos e a acidez livre, acidez em lactona, pH, 5-HMF, atividade diastásica e açúcares (Anexo D).

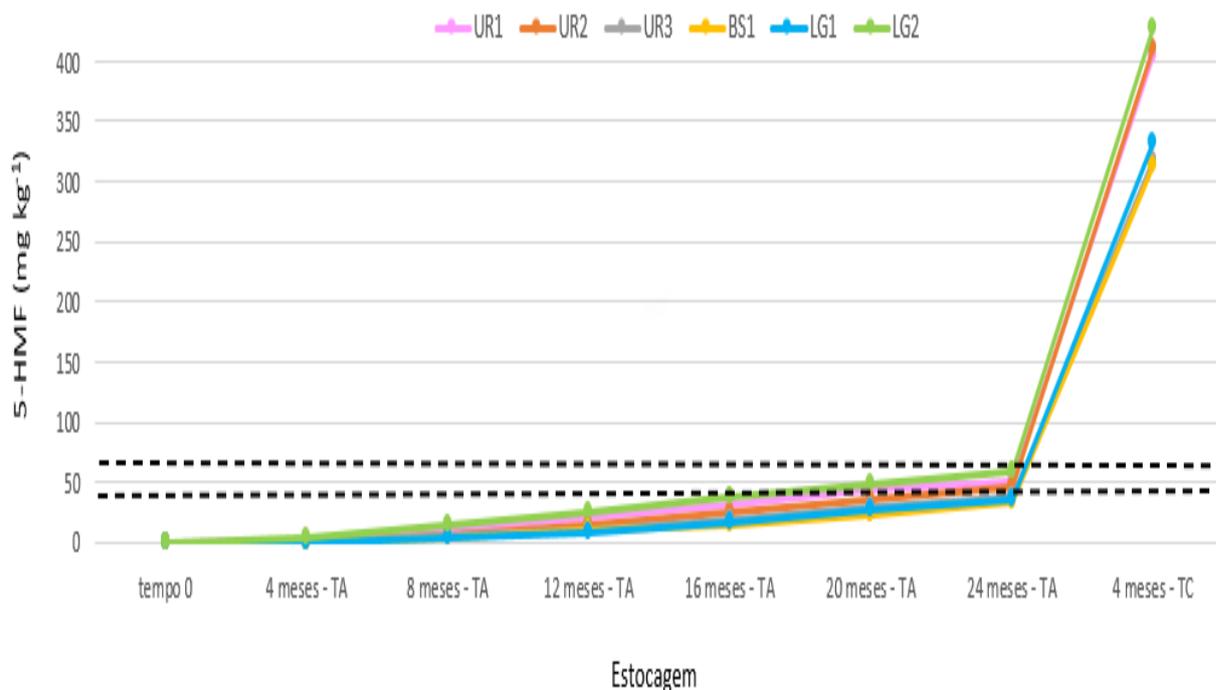
### 3.6 5-Hidroximetilfurfural

Considerando a composição do mel, outro importante parâmetro a ser avaliado nesse produto é o teor de 5-HMF.

Essa substância apresenta-se como um produto intermediário, produzido por via não enzimática pela reação de Maillard, por reações de desidratação de hexoses catalisadas em meio ácido e/ou por reações de caramelização (MOREIRA et al., 2010; RUFÍÁN-HENARES; PASTORIZA, 2016; SHAPLA et al., 2018). O aumento gradual e lento do teor de 5-HMF no mel ocorre naturalmente ao longo do seu armazenamento. No entanto, diversos fatores podem acelerar a sua formação, com destaque para a composição química do mel, bem como fatores extrínsecos como temperatura e tempo de estocagem (FECHNER et al., 2016; RUFÍÁN-HENARES; PASTORIZA, 2016; SHAPLA et al., 2018). Nesse contexto, o 5-HMF é considerado um dos indicadores de aquecimento e/ou armazenamento prolongado de méis (FECHNER et al., 2016; KARABAGIAS et al., 2020; SHAPLA et al., 2018).

Na Figura 3.5 (e Anexo E) é apresentado o perfil de 5-HMF nos méis de melato de bracatinga ao longo do período de estocagem, 24 meses em temperatura ambiente e 4 meses em temperatura de 40 °C.

Figura 3.5 – Concentração de 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF) em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento



Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; (---) limites máximos estipulados por organizações regulamentadoras; barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ .

**Fonte:** Próprio autor (2019).

De acordo com a Figura 3.5, observou-se que todas as amostras avaliadas no tempo zero apresentaram concentrações inferiores ao limite de detecção do método ( $0,60 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Esses resultados indicaram, portanto, que esses méis estão em conformidade com os limites máximos preconizados por diferentes organizações regulamentadoras, como a legislação brasileira ( $60 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e europeia ( $40 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002) sendo considerados portanto méis frescos. Ainda, os resultados encontrados concordam com relatos da literatura, onde teores de 5-HMF inferiores a  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  são normalmente reportados para méis de melato (CAN et al., 2015; FLORES; ESCUREDO; SEIJO, 2015; KARABAGIAS et al., 2020; MANZANARES et al., 2011; RODRÍGUEZ-FLORES et al., 2019).

Com relação às condições de estocagem avaliadas, a concentração de 5-HMF se mostrou um bom indicador de aquecimento e armazenamento prolongado de méis de melato de bracatinga. Em condições de temperatura ambiente os resultados demonstraram um aumento gradual do teor de 5-HMF ao longo dos 24 meses de armazenamento (até  $59,51 \pm 2,93 \text{ mg kg}^{-1}$

<sup>1</sup>), ainda assim abaixo do limite máximo preconizado pela legislação brasileira, mas superior ao determinado pela legislação europeia, observados nas amostras UR1 e LG2 após 20 meses e na amostra UR2 após 24 meses de estocagem.

Em relação aos méis armazenados em temperatura controlada de 40 °C por quatro meses, foi observado a intensificação da formação de 5-HMF com concentrações que atingiram  $427,67 \pm 5,75 \text{ mg kg}^{-1}$ , superiores aos limites máximos previstos por diferentes órgãos de fiscalização, correspondendo a concentrações 428 vezes maior quando comparado ao teor encontrado no tempo zero e aproximadamente oito vezes além da concentração determinada após 24 meses de estocagem em temperatura ambiente.

Outros estudos também reportaram o 5-HMF como um indicador adequado de aquecimento e armazenamento de méis por tempos prolongados. Em méis florais cítrico e de urze estocados a 20 °C por 12 meses, os teores de 5-HMF variaram de  $7,7 \pm 0,1$  a  $30,4 \pm 0,3 \text{ mg kg}^{-1}$  (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008, 2012). Esses resultados foram próximos aos encontrados em mel floral de colza estocado por 18 meses em temperatura ambiente (20-26 °C), em que a concentração de 5-HMF encontrada foi de  $19,7 \pm 2,8 \text{ mg kg}^{-1}$  (KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016a), enquanto em méis portugueses estocados em temperatura de 25 °C durante 4 anos, foram observadas concentrações para esse indicador que variaram entre  $4,1 \pm 0,04$  e  $149,0 \pm 6,1 \text{ mg kg}^{-1}$  (SOARES et al., 2017). Com relação ao armazenamento de méis em temperaturas altas, amostras de méis florais de marmeleiro e caju estocados por seis meses em temperatura controlada de 35-40 °C, o teor de 5-HMF que inicialmente era de  $2,8 \pm 0,2$  e  $7,4 \pm 0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente, aumentou para  $41,5 \pm 0,9$  e  $17,3 \pm 0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente (MOREIRA et al., 2007). Enquanto em méis florais cítrico e de urze estocados ao longo de 12 meses a 40 °C, o teor de 5-HMF que inicialmente foi de  $10,2 \pm 0,1$  e  $0,5 \pm 0,0 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente, alcançou a concentração de  $284,6 \pm 3,8$  e  $82,7 \pm 1,9 \text{ mg kg}^{-1}$  em ambos os méis, respectivamente (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008, 2012).

Comparativamente aos estudos citados acima, o mel de melato de bracatinga parece ser mais suscetível à formação de 5-HMF durante a estocagem, especialmente em temperatura alta. Essas variações podem ser justificadas devido às diferenças na composição química de cada tipo de mel.

Altos teores de açúcares redutores, alta acidez, pH ácido, presença de aminoácidos, reduzida umidade, aquecimento e tempo de armazenamento são alguns dos fatores que favorecem à ocorrência de reações relacionadas à formação de 5-HMF em méis (FALLICO; ARENA; ZAPPALA, 2008; RUFÍAN-HENARES; PASTORIZA, 2016; SHAPLA et al., 2018). Nesse estudo foi observada correlação significativa (Anexo D) entre o 5-HMF e parâmetros

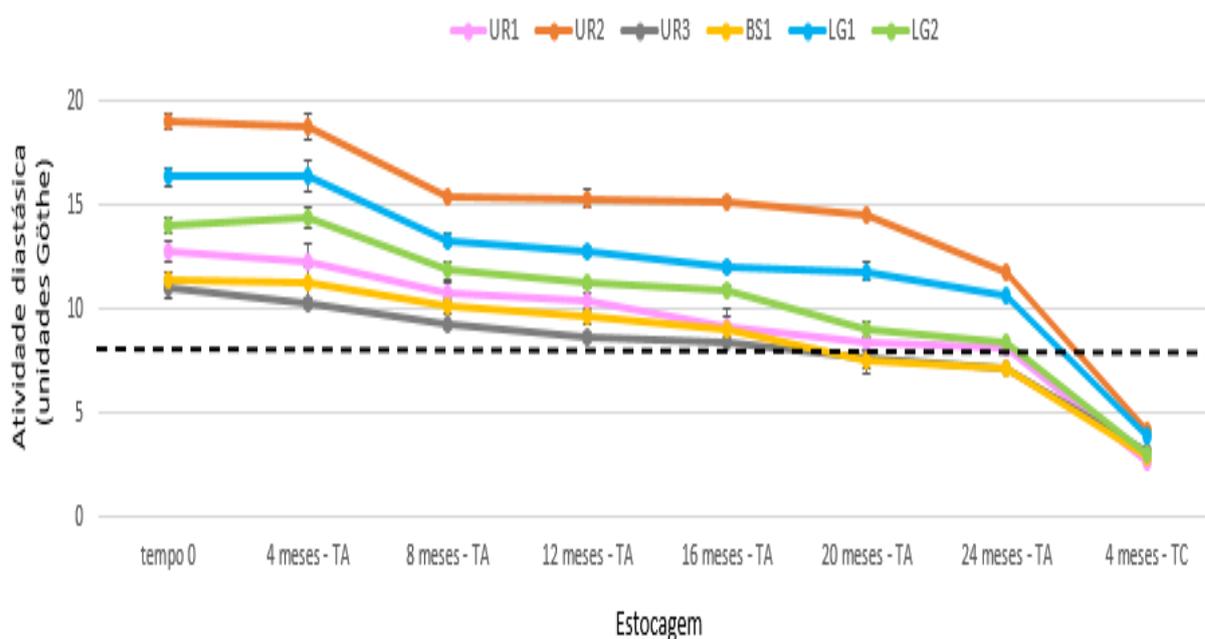
como a umidade, açúcares, aminoácidos e o ácido fórmico nos méis de melato de bracatinga, o que reforça a constatação da ocorrência de reações de Maillard, de caramelização e de desidratação direta dos açúcares em meio ácido, as quais são aceleradas quando temperaturas maiores que 35 °C são empregadas no processamento ou estocagem de méis. Como resultando, ocorre a formação de diversos produtos de degradação, com destaque para o 5-HMF (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008; DANON; MARCOTULLIO; JONG, 2013; MOREIRA et al., 2010; RUFÍAN-HENARES; PASTORIZA, 2016; SANZ et al., 2003; SHAPLA et al., 2018).

### 3.7 Atividade diastásica

Parâmetro que também está relacionado com o aquecimento e/ou estocagem prolongada de méis, a atividade diastásica é outra importante característica associada ao frescor desses produtos (FECHNER et al., 2016; KARABAGIAS et al., 2020; NAYIK; DAR; NANDA, 2015).

Na Figura 3.6 (e Anexo E) são apresentados os valores de atividade diastásica determinadas nos méis de melato de bracatinga durante o seu armazenamento.

Figura 3.6 – Atividade diastásica de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento



Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; (---) limite mínimo estipulado por organizações regulamentadoras; barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ .

Fonte: Próprio autor (2019).

De acordo com a Figura 3.6, os méis de melato de bracinga apresentaram no tempo zero atividade diastásica variando de  $11,08 \pm 0,49$  a  $19,02 \pm 0,96$  unidades Göthe. Esses valores encontram-se de acordo com o limite mínimo de 8 unidades Göthe estabelecido por diferentes regulamentações (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002) e reforçam o frescor dos méis avaliados. Ainda, os resultados encontrados encontram-se próximos aos reportados para outros méis de melato procedentes de outros países, como Grécia, Espanha e Turquia, em que concentrações variando entre 15 e 25 unidades Göthe são encontrados (CAN et al., 2015; FLORES; ESCUREDO; SEIJO, 2015; KARABAGIAS et al., 2020; MANZANARES et al., 2011; RODRÍGUEZ-FLORES et al., 2019).

Em relação às condições de estocagem estudadas, um decréscimo gradual nos valores de atividade diastásica foi observado nos méis estocados em temperatura ambiente ao longo dos 24 meses de armazenamento, resultando em uma redução de 35 a 40 % quando comparados aos valores encontrados no tempo zero. Esse comportamento resultou em valores de atividade diastásica inferiores ao limite mínimo preconizado por distintas regulamentações para as amostras UR3 e BS1 após 20 meses de armazenamento ( $7,60 \pm 0,39$  e  $7,48 \pm 0,16$  unidades Göthe, respectivamente). Decréscimos próximos aos encontrados nesse estudo após 12 e 16 meses de estocagem também foram verificados em méis florais cítrico e de urze estocados por 12 meses a 20 °C (decréscimos de 25,4 e 25,5 %, respectivamente) (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008, 2012), e em mel floral de colza armazenado por 18 meses a temperatura ambiente (20-26 °C), com decréscimo de 24,4 % (KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016a).

A estocagem dos méis de melato de bracinga a temperatura controlada de 40 °C por quatro meses intensificou o decréscimo dos valores de atividade diastásica ( $2,65 \pm 0,01$  a  $4,14 \pm 0,01$  unidades Göthe), resultando em valores inferiores ao limite mínimo de 8 unidades Göthe. Decréscimos próximos aos encontrados nesse estudo também foram observados em méis florais de marmeleiro e caju estocados por seis meses a temperatura controlada de 35-40 °C, correspondendo a 66,8 e 70,9 % de redução (MOREIRA et al., 2007).

Dessa forma, a atividade diastásica pode ser sugerida como um bom indicador de aquecimento prolongado do mel de melato de bracinga. Porém, devido aos valores de atividade diastásica relativamente baixos no tempo zero, este parâmetro parece não ser um indicador tão adequado quanto o 5-HMF e ácido glutâmico para a estocagem prolongada do mel de melato de bracinga.

A forte influência especialmente da temperatura sobre a atividade diastásica de méis pode estar relacionada a modificações estruturais das enzimas, especialmente  $\alpha$  e  $\beta$ -amilase,

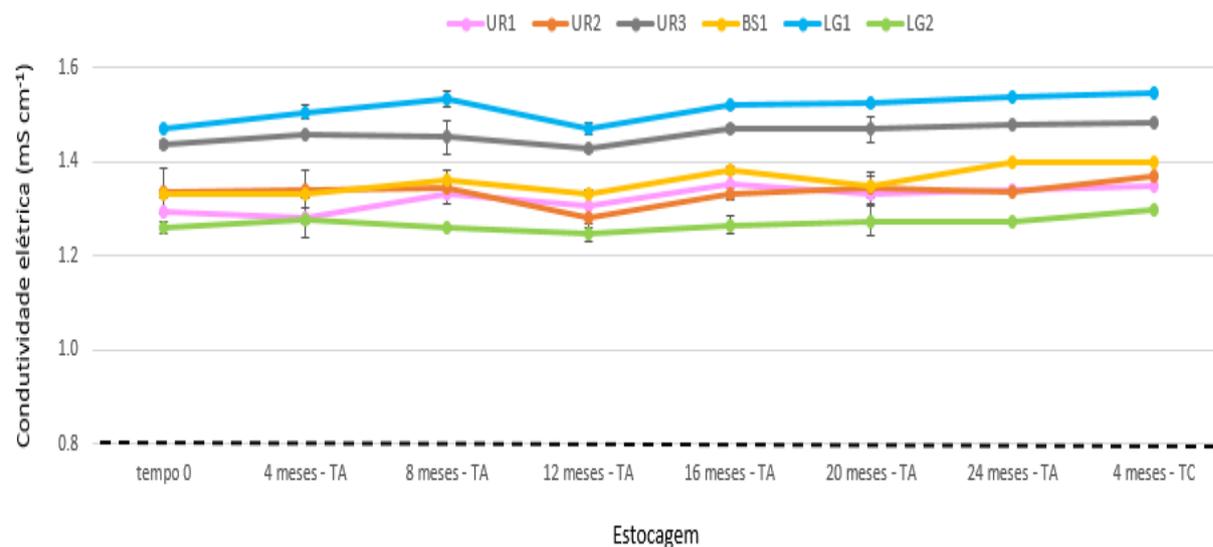
promovidas pelo calor (KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016a). Além disso, a característica ácida dos méis também pode ser um dos fatores com possível contribuição sobre a diminuição da atividade diastásica nos méis armazenados, uma vez que foi encontrada correlação significativa (Anexo D) entre a atividade diastásica e a acidez livre, acidez em lactona, pH e compostos com característica ácida, como alguns AOA e os aminoácidos investigados nesse estudo. Ainda, a correlação significativa (Anexo D) entre a atividade diastásica e 5-HMF nos méis estocados era esperada, uma vez que ambos os parâmetros são afetados pelo tempo de armazenamento prolongado e/ou aquecimento dos méis (FECHNER et al., 2016; KARABAGIAS et al., 2020; NAYIK; DAR; NANDA, 2015). Nesse contexto, a correlação significativa (Anexo D) encontrada entre a atividade diastásica e açúcares pode ser interpretada como uma influência indireta desses compostos, resultando na formação de AOA e de compostos de degradação, como o 5-HMF.

### 3.8 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica é um parâmetro que está diretamente relacionado ao teor de minerais em méis, mas também é influenciado pela presença de outros constituintes como a quantidade de ácidos orgânicos e proteínas presentes (CAN et al., 2015; FECHNER et al., 2016; KARABAGIAS et al., 2020).

Na Figura 3.7 (e Anexo E) são apresentados os resultados de condutividade elétrica nos méis de melato de bracatinga no tempo zero e nas condições de armazenamento.

Figura 3.7 – Condutividade elétrica de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento



Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; mS – miliSiemens; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; (---) limite mínimo estipulado por organizações regulamentadoras; barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ .

**Fonte:** Próprio autor (2019).

De acordo com a Figura 3.7, observou-se que a condutividade elétrica nos méis de melato de bracinga no tempo zero variou de  $1,26 \pm 0,01$  a  $1,47 \pm 0,03$  mS cm<sup>-1</sup>. Esses resultados estão próximos aos reportados para outros méis de melato como da Espanha, Grécia e Turquia, onde valores aproximados de 1,0 mS cm<sup>-1</sup> foram, de uma forma geral, observados (CAN et al., 2015; FLORES; ESCUREDO; SEIJO, 2015; KARABAGIAS et al., 2020; MANZANARES et al., 2011; RODRÍGUEZ-FLORES et al., 2019). Ainda, os resultados encontrados estão de acordo com o limite mínimo estabelecido para méis de melato (0,8 mS cm<sup>-1</sup>) por diferentes regulamentações (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002), indicando baixa contaminação desses com méis florais e, consequentemente, alta pureza (BERGAMO et al., 2019a).

Em relação às condições avaliadas nesse estudo, foi observado que não houveram variações significativas na condutividade elétrica dos méis armazenados em temperatura ambiente ao longo de 24 meses e a temperatura controlada de 40 °C durante quatro meses. Esse mesmo comportamento foi reportado para mel floral de colza estocado por 18 meses em temperatura ambiente (20-26 °C) (KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016a), porém em mel floral cítrico armazenado por 12 meses a 10, 20 e 40 °C, decréscimos de cerca de 30 % foram constatados, e relacionados à influência de outros compostos, além do teor de minerais sobre esse parâmetro (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008).

Sabe-se que, além dos minerais, outros compostos que encontram-se ionizados em méis podem afetar a condutividade elétrica (CAN et al., 2015; FECHNER et al., 2016; KARABAGIAS et al., 2020). Nesse sentido, a correlação significativa (Anexo D) verificada entre esse parâmetro e alguns AOA sugeriram sua possível contribuição. Nesse contexto, a correlação significativa (Anexo D) encontrada entre a condutividade elétrica e açúcares pode ser interpretada como uma influência indireta desses compostos na condutividade elétrica dos méis estocados por meio da formação de AOA.

## 4 Conclusão

Nesse estudo, o efeito das condições de estocagem sobre a qualidade físico-química e os ácidos orgânicos alifáticos e aminoácidos do mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) foi investigado.

A estocagem do mel de melato de bracatinga em temperatura ambiente por tempo prolongado (24 meses) resultou no decréscimo das concentrações de frutose, glicose, acidez em lactona, pH, atividade diastásica, ácido glutárico, ácido aspártico e ácido glutâmico e no aumento dos teores de maltose, acidez livre, 5-HMF, ácido fórmico, ácido láctico, ácido glucônico e ácido acético. Essas alterações foram intensificadas na condição de estocagem a 40 °C pelo período de quatro meses. Apenas a umidade, condutividade elétrica, ácido succínico, ácido cítrico, ácido málico e ácido glicólico foram pouco afetados pelas condições de estocagem aplicadas.

Como resultado dessas alterações, o mel de melato de bracatinga apresentou valores de acidez livre em desacordo com o limite máximo preconizado para todas as condições avaliadas. No entanto, a alta acidez livre desse tipo de mel deve ser considerada uma característica intrínseca desse produto e os baixos teores de ácido acético encontrados nos méis frescos e armazenados dão suporte à hipótese de que a alta acidez livre do mel de melato de bracatinga não é resultado de fermentação pós-colheita e consequente perda de qualidade do produto. Nesse sentido, destaca-se a importância de se conhecer esse comportamento ao longo das safras, a fim de confirmar ou não esse comportamento e propor a alteração das regulamentações relacionadas à acidez livre para esse mel a fim de garantir a sua adequação às exigências legais vigentes, caso esse comportamento se mantenha.

Ainda, o tempo de armazenamento prolongado em temperatura ambiente e em temperatura alta resultaram em concentrações em desacordo com os limites preconizados para os parâmetros de atividade diastásica, 5-HMF e açúcares redutores para algumas das amostras méis de melato de bracatinga do estudo. Foi possível sugerir também o 5-HMF e o ácido glutâmico como adequados indicadores de aquecimento prolongado e estocagem prolongada do mel de melato de bracatinga, além do ácido glutárico e atividade diastásica como indicadores de aquecimento prolongado desse mel.

Portanto, pode-se sugerir que o armazenamento do mel de melato de bracatinga em temperaturas altas deve ser evitado e que, desconsiderando os resultados referentes à acidez livre, este mel pode ser armazenado em temperatura ambiente por, no máximo, 16 meses, o que

demonstrou a manutenção dos parâmetros físico-químicos assegurando ao consumidor sua qualidade.

**CAPÍTULO 4 – Influência do armazenamento na estabilidade da cor e compostos bioativos presentes em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) do planalto catarinense**

Dados apresentados neste Capítulo fazem parte de artigo submetido ao periódico Food Chemistry

## Resumo

As características sensoriais, nutricionais e potencialmente promotoras de saúde destacam os méis de melato frente aos méis florais. Nesse cenário, o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) vem ganhando destaque principalmente pelas suas características bioativas, fato que evidencia a importância do monitoramento de possíveis alterações resultantes das condições de armazenamento sobre a constituição desse mel, uma vez que este produto é produzido apenas a cada dois anos, estando sujeito a variações de temperaturas durante o seu armazenamento. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo investigar, pela primeira vez, a influência do armazenamento – no teor de minerais, parâmetros de cor, produtos de reação de Maillard, compostos fenólicos e capacidade antioxidante *in vitro* – em mel de melato de bracatinga pelos períodos de 24 meses em temperatura ambiente e 4 meses em temperatura controlada de 40 °C. Nesse estudo, o armazenamento dos méis de mel de melato de bracatinga à temperatura ambiente ( $23,0 \pm 2,3$  °C) por tempo prolongado (24 meses) resultou no decréscimo do teor da maioria dos compostos fenólicos, no escurecimento do mel, no aumento do teor de MRP e no aumento das capacidades de redução e desativação deste mel. Foi verificado também que estas alterações foram intensificadas na condição de estocagem de 40 °C por quatro meses. Apenas os minerais foram, de maneira geral, pouco afetados pelas condições de estocagem aplicadas. Ainda, os MRP podem ser sugeridos como potenciais indicadores de aquecimento prolongado e estocagem prolongada do mel de melato de bracatinga. Portanto, pode-se sugerir que o armazenamento do mel de melato de bracatinga sob condições de temperatura alta deve ser evitado, e que a estocagem deste mel a temperatura ambiente por até 12 meses mantém satisfatoriamente as suas características bioativas e de cor. Ainda é possível recomendar, com base nos resultados alcançados nesse estudo, que o armazenamento deste mel em temperaturas abaixo de  $23,0 \pm 2,3$  °C seja a mais indicada, a fim de minimizar alterações observadas neste estudo, e principalmente, quando se pretende conservar este produto por um período superior a 12 meses. Além disso, esse estudo relatou pela primeira vez a influência das condições de armazenamento sobre os compostos fenólicos e minerais em méis.

## 1 Introdução

As características sensoriais, nutricionais e potencialmente promotoras de saúde diferenciadas do mel de melato em relação ao mel floral vem atraindo a atenção de consumidores e da indústria de alimentos (FLORES; ESCUREDO; SEIJO, 2015; PITACALVO; VÁZQUEZ, 2017). Cor escura, maior teor de minerais, compostos fenólicos e oligossacarídeos; e altas atividades antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana são algumas das características normalmente observadas em méis de melato quando comparadas aos méis florais (BERGAMO et al., 2018, 2019b; ESCUREDO et al., 2013; LUKASIEWICZ; KOWALSKI; MAKAREWICZ, 2015; MAJTAN et al., 2013; PASCUAL-MATÉ et al., 2018; SALONEN et al., 2017; SERAGLIO et al., 2016).

Embora seja um produto genuinamente brasileiro e com propriedades reconhecidamente benéficas à saúde, o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) ainda é pouco conhecido no território nacional, mas consolidado no mercado europeu, responsável pela importação de praticamente toda sua produção. Este mel é produzido especialmente no planalto catarinense e em períodos bianuais, e sempre no primeiro semestre do ano, época de baixa oferta de néctar. Nessas épocas, cochonilhas (*Tachardiella* sp. ou *Stigmatococcus paranaensis* Foldi) que infestam as árvores de bracatinga excretam exsudatos açucarados que são coletados por abelhas *Apis mellifera* para a produção do mel de melato de bracatinga (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015). A presença de substâncias potencialmente bioativas, como aminoácidos, proteínas, minerais, e compostos fenólicos, além de alta capacidade antioxidante *in vitro* foram reportadas para o mel de melato de bracatinga, e, na maioria das vezes, apresentando níveis superiores para essas características, em relação a outros méis de melato, mas especialmente quando comparados aos méis florais (AZEVEDO et al., 2017a, 2017b; BERGAMO et al., 2018, 2019a; SERAGLIO et al., 2016, 2017; SILVA et al., 2019a).

Nesse sentido, a influência das condições de armazenamento na constituição desse mel é uma importante questão a ser levantada. Isso porque este produto é produzido apenas a cada dois anos, devido ao ciclo de vida da cochonilha, estando sujeito a variações de temperaturas durante o seu armazenamento, principalmente altas. Sendo assim, alterações significativas em suas características sensoriais e de bioatividade podem ocorrer. Alguns estudos publicados exploram modificações sofridas por méis durante o processamento e período de armazenamento, e os resultados demonstrados indicam alterações que impactam sua composição físico-química, tanto de forma positiva quanto negativa. Por outro lado, existe uma

carência de estudos que relacionam a influência das condições de armazenamento frente a compostos específicos do mel, principalmente considerando períodos longos, acima de 12 meses (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012; IGLESIAS et al., 2006; JERKOVIC; MARIJANOVIC, 2010; MOREIRA et al., 2010; VISQUERT; VARGAS; ESCRICHE, 2014).

Sendo assim, considerando o crescente interesse pelo mel de melato de bracatinga e a escassez de informações frente à sua estabilidade ao longo do tempo, este estudo teve como objetivo investigar, pela primeira vez, a influência do armazenamento – sobre o teor de minerais, parâmetros de cor, produtos de reação de Maillard, compostos fenólicos e capacidade antioxidante *in vitro* – em mel de melato de bracatinga pelos períodos de 24 meses em temperatura ambiente e 4 meses em temperatura controlada de 40 °C.

## 2 Materiais e métodos

### 2.1 Amostras e estudo do tempo de vida útil do mel de melato de bracatinga

As amostras de mel de melato de bracatinga utilizadas, assim como o detalhamento do estudo de estabilidade desses méis estão descritos no *Capítulo 3, item 2 Materiais e métodos, subitens 2.1 e 2.2*, respectivamente.

### 2.2 Reagentes e soluções

Para todas as análises, reagentes de grau analítico (pureza  $\geq 95\%$ ) e água ultrapura (Milli-Q, Millipore, Bedford, Massachusetts, E.U.A.) foram utilizados.

O reagente Folin-Ciocalteu, DPPH, TPTZ, potássio, cálcio, sódio, magnésio, manganês, bário, imidazol, ácido acético, ácido láctico, apigenina, isoramnetina, pinobanksina, ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido *p*-aminobenzoico, ácido *p*-cumárico, 4-metilumbeliferona, ácido vanílico, rutina, naringina, catequina, sinapaldeído, ácido cafeico, ácido clorogênico, coniferaldeído, siringaldeído, crisina, hesperidina, ácido siringico, kaempferol, naringenina, epigallocatequina galato, epicatequina, pinocembrina, galangina e luteolina foram obtidos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, E.U.A.), ácido salicílico da Nuclear (Diadema, São Paulo, Brasil), quercetina da Fluka (Saint Gallen, Suíça), ácido gálico da Vetec (Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) e ácido 3,4-dihidroxibenzóico da Acros Organic (Geel, Bélgica). A aquisição do ácido ascórbico, cloreto férrico, acetato de sódio, sulfato ferroso heptahidratado, ácido clorídrico, carbonato de sódio e hidróxido de sódio foi realizada da Vetec (Rio de Janeiro,

Rio de Janeiro, Brasil). DMSO, metanol, acetonitrila e ácido fórmico grau HPLC foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Hessen, Alemanha).

### 2.3 Determinação de minerais

A determinação de cátions foi realizada de acordo com método proposto por Rizelio et al. (2012a), com algumas modificações (SERAGLIO et al., 2017) utilizando CE-DAD. Os resultados para  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$  e  $Mn^{2+}$  foram expressos como  $mg\ kg^{-1}$ . Para o  $Na^+$ , a curva analítica consistiu em seis níveis de concentração, equidistantes, variando de 1,15 – 34,5  $mg\ L^{-1}$ . O procedimento detalhado do método e o preparo de amostras está descrito no *Capítulo 2, item 2 Materiais e métodos, subitens 2.6 e 2.2.1*, respectivamente.

### 2.4 Cor

A cor do mel foi determinada em um colorímetro portátil (modelo Chroma Meter CR-400, Konica Minolta, Tokio, Japão) ajustado para operar com D65 iluminante e 2 ° de ângulo de observação. A leitura dos parâmetros  $L^*$  (0 a 100, quanto maior o valor, maior a luminosidade),  $a^*$  (-100 a +100, valores negativos indicam a intensidade do tom verde e valores positivos indicam a intensidade do tom vermelho) e  $b^*$  (-100 a +100, valores negativos indicam a intensidade do tom azul e valores positivos indicam a intensidade do tom amarelo) em mel concentrado foi realizado utilizando cubeta de plástico com caminho ótico de 10 mm contra fundo branco (BERGAMO et al., 2019b).

### 2.5 Produtos da reação de Maillard

Os produtos da reação de Maillard (MRP, do inglês, *Maillard reaction products*) nas amostras de mel foi estimado espectrofotometricamente. A fim de garantir valores de absorvância inferiores a 1.0, as amostras de mel (aproximadamente 0,5 g) foram diluídas na proporção 1:19 com água (m/v) e então realizada a leitura da absorvância em comprimento de onda de 420 nm (YÁÑEZ et al., 2018). O teor de MRP foi expresso em unidades de absorvância (UA).

## 2.6 Determinação de compostos fenólicos individuais

A determinação de compostos fenólicos foi realizada de acordo com o método proposto e validado analiticamente para mel de melato de bracatinga (SERAGLIO et al., 2016), utilizando LC-ESI-MS/MS. A concentração de cada composto fenólico foi expressa em  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ . O procedimento detalhado do método bem como do preparo de amostra encontra-se descrito no *Capítulo 2, item 2 Materiais e métodos, subitens 2.5 e 2.2.1*, respectivamente.

## 2.7 Determinação da capacidade antioxidante *in vitro*

A capacidade antioxidante *in vitro* foi determinada a partir dos métodos espectrofotométricos de capacidade de desativação do radical DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; KIM et al., 2002), capacidade antioxidante de redução do ferro (BENZIE; STRAIN, 1996; BERTONCELJ et al., 2007) e pela capacidade redutora avaliada pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Os resultados foram expressos em mg EAA  $100 \text{ g}^{-1}$  para o método DPPH,  $\mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$  para o método FRAP e mg EAG  $100 \text{ g}^{-1}$  para o método Folin-Ciocalteu. Os procedimentos detalhados dos métodos bem como do preparo de amostra estão descritos no *Capítulo 2, item 2 Materiais e métodos, subitens 2.4 e 2.2.1*, respectivamente.

## 2.8 Análise estatística

As análises foram realizadas a partir de três réplicas independentes de preparo, e os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

A avaliação da homogeneidade das variâncias por meio do teste de Levene (LEVENE, 1960) foi inicialmente investigado. Na sequência, a análise de variâncias foi aplicada e, quando verificada diferença significativa pelo F-teste, foi realizada a aplicação do teste de multicomparação de médias (teste de *Tukey*). Por meio da análise de correlação de Pearson, também foi investigada a possível existência de correlação significativa entre os diferentes parâmetros estudados. Diferenças entre as médias no nível de 5 % ( $p < 0,05$ ) foram consideradas significativas.

A decisão multicritério de Derringer e Suich (1980) foi utilizada visando definir o tempo de armazenamento mais adequado para cada amostra de mel de melato de bracatinga analisado a temperatura ambiente. Para tal, valores de desejabilidade individual (*d*) foram estabelecidos

para cada uma das respostas individuais e posteriormente estas foram combinadas na desejabilidade global. A desejabilidade individual (entre 0, não desejável, e 1, desejável) foi definida a fim de minimizar os MRP e maximizar as demais respostas (Anexo F).

Para minimizar os valores de MRP, foi considerado:

$d = 1$ , se o valor individual de MRP for o menor valor de MRP obtido experimentalmente ( $MRP_{min}$ ).

$d = 0$ , se o valor individual de MRP for o maior valor de MRP obtido experimentalmente ( $MRP_{max}$ ).

$d = \frac{MRP_{individual} - MRP_{max}}{MRP_{min} - MRP_{max}}$ , se o valor individual de MRP for menor que o  $MRP_{min}$  e maior que o  $MRP_{max}$ .

Para a maximização das demais respostas (R), foi considerado:

$d = 0$ , se o valor individual da R for o menor valor da R obtido experimentalmente ( $R_{min}$ ).

$d = 1$ , se o valor individual da R for o maior valor da R obtido experimentalmente ( $R_{max}$ ).

$d = \frac{R_{individual} - R_{max}}{R_{min} - R_{max}}$ , se o valor individual da R for menor que a  $R_{min}$  e maior que a  $R_{max}$ .

Esses resultados foram então combinados na desejabilidade global ( $D$ ), a qual foi calculada como:

$D = \sqrt[m]{d_1 \times d_2 \times \dots \times d_m}$ , onde  $m$  é o número de variáveis avaliadas e  $d_1, d_2, \dots, d_m$ , são os valores de desejabilidade individual obtidos para cada variável.

Todas as análises foram realizadas utilizando o programa *Statistica 13.0* (licença adquirida pela UFSC), *Paleontological Statistics 2.16* (acesso livre) e Microsoft Excel 2010 com a extensão *Action 2.9* (acesso livre).

### 3 Resultados e discussão

#### 3.1 Minerais

Além de terem atuação relevante em diversas atividades biológicas, os minerais contribuem de maneira significativa na cor dos méis, especialmente de méis de melato, em que maiores concentrações são encontradas quando comparados aos méis florais (BERGAMO et al., 2018; ESCUREDO et al., 2013; SERAGLIO et al., 2019).

Na Tabela 4.1 são apresentadas as concentrações dos minerais quantificados nos méis de melato de bracatinga durante o período de armazenamento de 24 meses em temperatura ambiente e 4 meses em temperatura controlada de 40 °C.

Tabela 4.1 – Teor de minerais (mg kg<sup>-1</sup>) quantificados em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento

| Mineral          | Amostra | Armazenamento                 |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |
|------------------|---------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                  |         | Tempo 0                       | 4 meses – TA                  | 8 meses – TA                  | 12 meses – TA                 | 16 meses – TA                 | 20 meses – TA                 | 24 meses – TA                 | 4 meses – TC                  |
| K <sup>+</sup>   | UR1     | 5533,93 ± 131,48 <sup>a</sup> | 5586,31 ± 143,32 <sup>a</sup> | 5558,35 ± 159,01 <sup>a</sup> | 5614,25 ± 32,88 <sup>a</sup>  | 5495,49 ± 15,06 <sup>a</sup>  | 5540,28 ± 227,21 <sup>a</sup> | 5514,74 ± 145,04 <sup>a</sup> | 5727,22 ± 141,24 <sup>a</sup> |
|                  | UR2     | 5728,21 ± 152,09 <sup>a</sup> | 5701,61 ± 166,75 <sup>a</sup> | 5648,66 ± 128,53 <sup>a</sup> | 5700,32 ± 84,48 <sup>a</sup>  | 5796,76 ± 104,10 <sup>a</sup> | 5696,54 ± 201,04 <sup>a</sup> | 5699,99 ± 81,10 <sup>a</sup>  | 5758,69 ± 35,28 <sup>a</sup>  |
|                  | UR3     | 6339,26 ± 136,58 <sup>a</sup> | 6390,84 ± 125,85 <sup>a</sup> | 6351,17 ± 17,33 <sup>a</sup>  | 6437,84 ± 162,51 <sup>a</sup> | 6287,94 ± 174,51 <sup>a</sup> | 6246,92 ± 119,06 <sup>a</sup> | 6251,56 ± 90,33 <sup>a</sup>  | 6507,45 ± 43,05 <sup>a</sup>  |
|                  | BS1     | 5734,61 ± 103,67 <sup>a</sup> | 5794,93 ± 123,58 <sup>a</sup> | 5750,53 ± 143,49 <sup>a</sup> | 5881,42 ± 108,23 <sup>a</sup> | 5836,88 ± 33,05 <sup>a</sup>  | 5755,60 ± 151,30 <sup>a</sup> | 5702,02 ± 53,60 <sup>a</sup>  | 5873,95 ± 123,41 <sup>a</sup> |
|                  | LG1     | 6553,64 ± 117,38 <sup>a</sup> | 6546,00 ± 129,40 <sup>a</sup> | 6574,35 ± 136,98 <sup>a</sup> | 6572,66 ± 122,44 <sup>a</sup> | 6550,03 ± 34,07 <sup>a</sup>  | 6599,54 ± 59,95 <sup>a</sup>  | 6528,10 ± 58,25 <sup>a</sup>  | 6628,71 ± 155,48 <sup>a</sup> |
|                  | LG2     | 5266,67 ± 17,58 <sup>a</sup>  | 5223,56 ± 108,16 <sup>a</sup> | 5282,78 ± 133,40 <sup>a</sup> | 5339,43 ± 154,83 <sup>a</sup> | 5366,88 ± 152,58 <sup>a</sup> | 5274,28 ± 20,63 <sup>a</sup>  | 5306,13 ± 71,47 <sup>a</sup>  | 5367,88 ± 118,22 <sup>a</sup> |
| Mg <sup>2+</sup> | UR1     | 68,19 ± 0,92 <sup>a</sup>     | 71,39 ± 0,98 <sup>a</sup>     | 69,48 ± 1,95 <sup>a</sup>     | 70,49 ± 0,52 <sup>a</sup>     | 70,69 ± 0,75 <sup>a</sup>     | 69,18 ± 2,47 <sup>a</sup>     | 68,58 ± 1,80 <sup>a</sup>     | 71,85 ± 1,26 <sup>a</sup>     |
|                  | UR2     | 64,91 ± 1,46 <sup>a</sup>     | 66,43 ± 1,01 <sup>a</sup>     | 65,27 ± 0,24 <sup>a</sup>     | 66,06 ± 1,77 <sup>a</sup>     | 66,12 ± 1,37 <sup>a</sup>     | 65,56 ± 1,07 <sup>a</sup>     | 65,43 ± 0,83 <sup>a</sup>     | 67,71 ± 1,18 <sup>a</sup>     |
|                  | UR3     | 67,04 ± 1,50 <sup>a</sup>     | 69,77 ± 1,42 <sup>a</sup>     | 67,83 ± 0,91 <sup>a</sup>     | 69,09 ± 2,65 <sup>a</sup>     | 67,64 ± 1,75 <sup>a</sup>     | 67,42 ± 1,81 <sup>a</sup>     | 67,19 ± 1,68 <sup>a</sup>     | 69,08 ± 1,64 <sup>a</sup>     |
|                  | BS1     | 64,62 ± 1,08 <sup>b</sup>     | 66,03 ± 0,86 <sup>ab</sup>    | 65,47 ± 1,70 <sup>ab</sup>    | 66,18 ± 1,84 <sup>ab</sup>    | 66,70 ± 0,33 <sup>ab</sup>    | 65,61 ± 2,80 <sup>ab</sup>    | 65,58 ± 2,78 <sup>ab</sup>    | 69,89 ± 1,98 <sup>a</sup>     |
|                  | LG1     | 79,40 ± 1,55 <sup>a</sup>     | 82,67 ± 1,30 <sup>a</sup>     | 79,97 ± 0,83 <sup>a</sup>     | 80,51 ± 1,30 <sup>a</sup>     | 80,05 ± 0,08 <sup>a</sup>     | 80,43 ± 1,36 <sup>a</sup>     | 80,18 ± 2,38 <sup>a</sup>     | 81,73 ± 2,08 <sup>a</sup>     |
|                  | LG2     | 68,19 ± 0,09 <sup>b</sup>     | 72,58 ± 0,39 <sup>a</sup>     | 69,51 ± 1,47 <sup>ab</sup>    | 72,17 ± 0,81 <sup>ab</sup>    | 72,29 ± 1,10 <sup>a</sup>     | 69,83 ± 1,26 <sup>ab</sup>    | 69,69 ± 2,82 <sup>ab</sup>    | 72,47 ± 1,66 <sup>a</sup>     |
| Ca <sup>2+</sup> | UR1     | 33,92 ± 1,35 <sup>b</sup>     | 33,10 ± 0,85 <sup>b</sup>     | 36,87 ± 0,33 <sup>a</sup>     | 33,27 ± 0,07 <sup>b</sup>     | 32,02 ± 1,81 <sup>b</sup>     | 31,44 ± 1,03 <sup>b</sup>     | 26,91 ± 0,14 <sup>c</sup>     | 26,96 ± 0,55 <sup>c</sup>     |
|                  | UR2     | 24,61 ± 1,03 <sup>c</sup>     | 25,16 ± 0,73 <sup>bc</sup>    | 26,80 ± 0,79 <sup>ab</sup>    | 24,48 ± 0,98 <sup>c</sup>     | 25,16 ± 0,13 <sup>bc</sup>    | 25,17 ± 0,85 <sup>bc</sup>    | 25,39 ± 0,33 <sup>bc</sup>    | 27,46 ± 0,30 <sup>a</sup>     |
|                  | UR3     | 37,51 ± 0,65 <sup>ab</sup>    | 35,24 ± 0,93 <sup>bc</sup>    | 38,65 ± 0,51 <sup>a</sup>     | 36,65 ± 0,47 <sup>ab</sup>    | 38,72 ± 1,70 <sup>a</sup>     | 36,09 ± 1,34 <sup>abc</sup>   | 33,60 ± 1,06 <sup>cd</sup>    | 31,96 ± 0,72 <sup>d</sup>     |
|                  | BS1     | 20,79 ± 0,87 <sup>d</sup>     | 24,28 ± 0,30 <sup>a</sup>     | 23,73 ± 0,93 <sup>ab</sup>    | 22,20 ± 0,14 <sup>bcd</sup>   | 23,13 ± 1,07 <sup>abc</sup>   | 21,26 ± 0,73 <sup>cd</sup>    | 20,58 ± 0,44 <sup>d</sup>     | 18,17 ± 0,25 <sup>e</sup>     |
|                  | LG1     | 29,68 ± 1,25 <sup>c</sup>     | 31,20 ± 0,85 <sup>bc</sup>    | 34,80 ± 1,67 <sup>a</sup>     | 31,06 ± 0,26 <sup>bc</sup>    | 32,72 ± 0,33 <sup>ab</sup>    | 30,43 ± 1,01 <sup>bc</sup>    | 26,28 ± 1,19 <sup>d</sup>     | 25,66 ± 0,59 <sup>d</sup>     |
|                  | LG2     | 31,46 ± 0,49 <sup>a</sup>     | 29,20 ± 0,67 <sup>b</sup>     | 31,35 ± 0,40 <sup>a</sup>     | 28,97 ± 0,08 <sup>b</sup>     | 26,75 ± 0,67 <sup>c</sup>     | 25,56 ± 0,22 <sup>cd</sup>    | 22,38 ± 0,44 <sup>e</sup>     | 25,37 ± 0,46 <sup>d</sup>     |
| Na <sup>+</sup>  | UR1     | 9,49 ± 0,14 <sup>cd</sup>     | 10,26 ± 0,40 <sup>ab</sup>    | 9,69 ± 0,19 <sup>bcd</sup>    | 9,13 ± 0,46 <sup>d</sup>      | 9,58 ± 0,23 <sup>bcd</sup>    | 10,17 ± 0,12 <sup>abc</sup>   | 9,29 ± 0,00 <sup>d</sup>      | 10,51 ± 0,12 <sup>a</sup>     |
|                  | UR2     | 7,21 ± 0,14 <sup>bc</sup>     | 7,31 ± 0,16 <sup>bc</sup>     | 7,62 ± 0,13 <sup>ab</sup>     | 6,57 ± 0,17 <sup>d</sup>      | 6,92 ± 0,02 <sup>cd</sup>     | 7,07 ± 0,20 <sup>c</sup>      | 7,17 ± 0,19 <sup>bc</sup>     | 7,82 ± 0,17 <sup>a</sup>      |
|                  | UR3     | 6,57 ± 0,18 <sup>d</sup>      | 7,42 ± 0,27 <sup>ab</sup>     | 7,46 ± 0,17 <sup>ab</sup>     | 6,73 ± 0,18 <sup>cd</sup>     | 7,32 ± 0,27 <sup>b</sup>      | 7,26 ± 0,24 <sup>bc</sup>     | 7,74 ± 0,02 <sup>ab</sup>     | 7,97 ± 0,18 <sup>a</sup>      |
|                  | BS1     | 3,93 ± 0,10 <sup>b</sup>      | 4,54 ± 0,14 <sup>a</sup>      | 3,97 ± 0,03 <sup>b</sup>      | 3,97 ± 0,29 <sup>b</sup>      | 3,90 ± 0,07 <sup>b</sup>      | 3,88 ± 0,06 <sup>b</sup>      | 3,86 ± 0,07 <sup>b</sup>      | 4,81 ± 0,11 <sup>a</sup>      |
|                  | LG1     | 5,88 ± 0,16 <sup>b</sup>      | 6,45 ± 0,20 <sup>a</sup>      | 6,53 ± 0,16 <sup>a</sup>      | 5,93 ± 0,14 <sup>b</sup>      | 5,51 ± 0,06 <sup>b</sup>      | 5,91 ± 0,14 <sup>b</sup>      | 5,55 ± 0,26 <sup>b</sup>      | 6,89 ± 0,14 <sup>a</sup>      |
|                  | LG2     | 4,73 ± 0,15 <sup>d</sup>      | 5,62 ± 0,18 <sup>ab</sup>     | 5,58 ± 0,11 <sup>ab</sup>     | 5,35 ± 0,16 <sup>b</sup>      | 5,18 ± 0,15 <sup>bc</sup>     | 4,74 ± 0,20 <sup>cd</sup>     | 4,83 ± 0,10 <sup>cd</sup>     | 5,83 ± 0,17 <sup>a</sup>      |

Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; Resultados expressos como média ± desvio padrão;  $n = 3$ ; <sup>a-c</sup> Letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor (2019).

Conforme apresentado na Tabela 4.1, o potássio foi o mineral majoritário em todas as amostras, variando de  $5223,56 \pm 108,16$  a  $6628,71 \pm 155,48$  mg kg<sup>-1</sup>, seguido do magnésio ( $64,62 \pm 1,08$  a  $82,67 \pm 1,30$  mg kg<sup>-1</sup>), cálcio ( $18,17 \pm 0,25$  a  $38,72 \pm 1,70$  mg kg<sup>-1</sup>) e sódio ( $3,86 \pm 0,07$  a  $10,51 \pm 0,12$  mg kg<sup>-1</sup>). O manganês não foi detectado em nenhuma das amostras, demonstrando estar abaixo do limite de detecção ( $0,9$  mg kg<sup>-1</sup>). Os resultados encontrados para estes minerais nas amostras no tempo zero estão em concordância com dados encontrados para méis de melato procedentes do Brasil, Espanha, Nova Zelândia e Polônia (BERGAMO et al., 2018; CHUDZINSKA; BARALKIEWICZ, 2010; ESCUREDO et al., 2013; SERAGLIO et al., 2017; VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011).

Com relação ao armazenamento das amostras e às condições empregadas durante o estudo, o potássio e o magnésio demonstraram relativa estabilidade em temperatura ambiente, uma vez que não foram observadas variações significativas de suas concentrações ao longo dos 24 meses. Por outro lado, para o cálcio, uma tendência de decréscimo na concentração foi notada ao longo dos 24 meses, em temperatura ambiente, enquanto para o sódio não houve uma tendência clara.

O armazenamento dos méis em temperatura controlada de 40 °C durante quatro meses também não demonstrou afetar significativamente a concentração dos minerais potássio e magnésio. Entretanto, uma tendência de decréscimo no teor de cálcio em relação aos encontrados no tempo zero e ao longo do período de armazenamento em temperatura ambiente pode ser sugerida. Quanto ao sódio, as concentrações foram maiores nessa condição de armazenamento (4 meses/40 °C) quando comparado aos teores encontrados no tempo zero e após 12 meses de armazenamento a temperatura ambiente.

Portanto, considerando os resultados encontrados para os méis de melato de bracatinga nas condições de armazenamento avaliadas, ambos os minerais potássio e magnésio podem ser sugeridos como estáveis. Entretanto, para os minerais cálcio e sódio, diferentes comportamentos foram observados, o que pode ser explicado pela atuação desses minerais em complexos formados com compostos orgânicos, tais como substâncias fenólicas e proteínas (BOGDANOV; RUOFF; PERSANO-ODDO, 2004; POHL et al., 2012c), o qual poderia resultar no aumento ou na redução da concentração desses minerais em sua sua forma livre (investigada neste estudo) na matriz nas diferentes condições as quais as amostras foram submetidas. A hipótese da participação dos minerais sódio e cálcio em reações de complexação foi amparada pela presença de diversos compostos fenólicos e proteínas em méis de melato de bracatinga, bem como pela alta bioacessibilidade *in vitro* reportada para o cálcio após a

simulação da digestão em méis de melato de bracinga (AZEVEDO et al., 2017b; SERAGLIO et al., 2017; SILVA et al., 2019a).

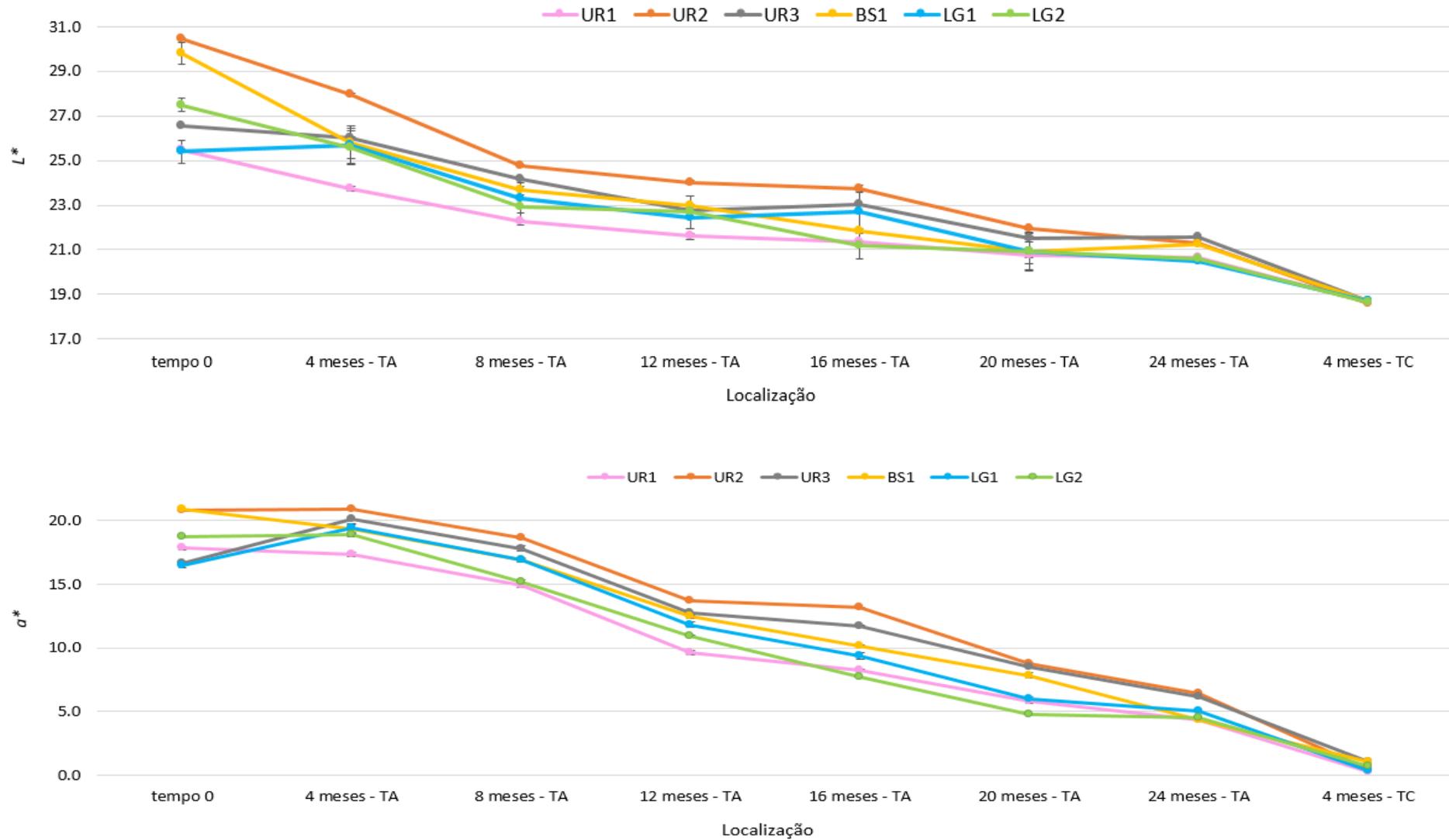
Finalmente, esses resultados demonstram relevância, uma vez que não se tem conhecimento, até presente momento, de informações relatadas na literatura científica que relacionem a influência das condições de armazenamento nas possíveis alterações de concentração de minerais livres em méis.

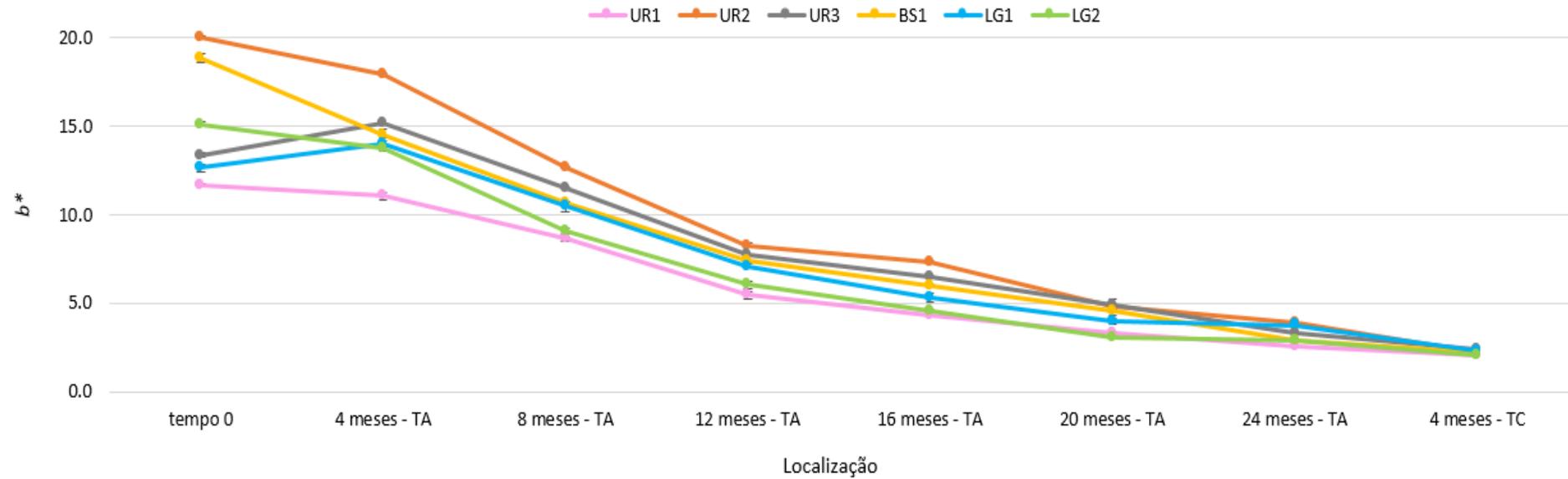
### 3.2 Parâmetros de cor

A cor âmbar é uma característica sensorial marcante de méis de melato, e essa característica está fortemente relacionada ao elevado teor de minerais presente nesse tipo de mel, mas também é influenciada pela presença de compostos com ligações duplas conjugadas, como carotenoides, ácidos fenólicos, flavonoides e MRP (BRUDZYNSKI; KIM, 2011; GONZÁLEZ-MIRET et al., 2005; TURKUT et al., 2018).

Os parâmetros de cor dos méis de melato de bracinga durante o seu armazenamento são apresentados na Figura 4.1 (e Anexo G).

Figura 4.1 – Parâmetros de cor de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento ao longo de 24 meses em temperatura ambiente e 4 meses em temperatura controlada de 40 °C





Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages;  $L^*$  – luminosidade;  $a^*$  – valores negativos indicam a intensidade do tom verde e valores positivos indicam a intensidade do tom vermelho;  $b^*$  – valores negativos indicam a intensidade do tom azul e valores positivos indicam a intensidade do tom amarelo; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ .

**Fonte:** Próprio autor (2019).

Conforme apresentado na Figura 4.1, os resultados referentes aos parâmetros de cor foram similares entre as amostras de méis de melato de bracinga no tempo zero, variando de  $25,40 \pm 0,06$  a  $30,45 \pm 0,09$  para o parâmetro  $L^*$ , de  $16,47 \pm 0,10$  a  $20,85 \pm 0,16$  para o parâmetro  $a^*$  e de  $11,64 \pm 0,08$  a  $20,01 \pm 0,21$  para o parâmetro  $b^*$ . Os baixos valores de luminosidade e de intensidade dos tons vermelho e amarelo observados nos méis de melato de bracinga confirmam que se trata de um produto com coloração escura. Ademais, esses resultados estão de acordo com dados anteriores, relatados para méis de melato como de *Mimosa scabrella* Bentham, *Abies*, *Picea* e *Pinus* (BERGAMO et al., 2019b; BERTONCELJ et al., 2007; TURKUT et al., 2018).

Com o armazenamento dos méis de melato de bracinga em temperatura ambiente, foi verificado um decréscimo em todos os parâmetros de cor investigados, indicando assim o escurecimento do mel. Essa mesma tendência foi verificada nos méis estocados em temperatura controlada de 40 °C por quatro meses, com especial destaque ao parâmetro  $a^*$ . É interessante notar também que as amostras de mel UR3 e LG1 apresentaram um comportamento distinto quando comparadas às demais amostras de mel, principalmente no tempo zero e após 4 meses de estocagem a temperatura ambiente. Entretanto, não foi possível identificar nenhum potencial composto ou característica que possa estar relacionada como provável causa do comportamento distinto dessas amostras com relação a sua cor, o que leva a crer que foi um acontecimento pontual.

Durante o armazenamento e aquecimento do mel, espera-se que ocorra seu escurecimento devido principalmente à formação de MRP (BRUDZYNSKI; KIM, 2011; KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016a). Assim, considerando os resultados encontrados nesse estudo, sugere-se que de fato a cor do mel de melato de bracinga seja afetada pela estocagem prolongada e por altas temperaturas, devido possivelmente à formação de MRP. Durante estudos que exploraram o aquecimento ou armazenamento de méis de melato, a exemplo dos méis da Espanha e Turquia, o escurecimento desses também foi reportado e relacionado ao aumento do teor de MRP (TURKUT et al., 2018; VISQUERT; VARGAS; ESCRICHE, 2014).

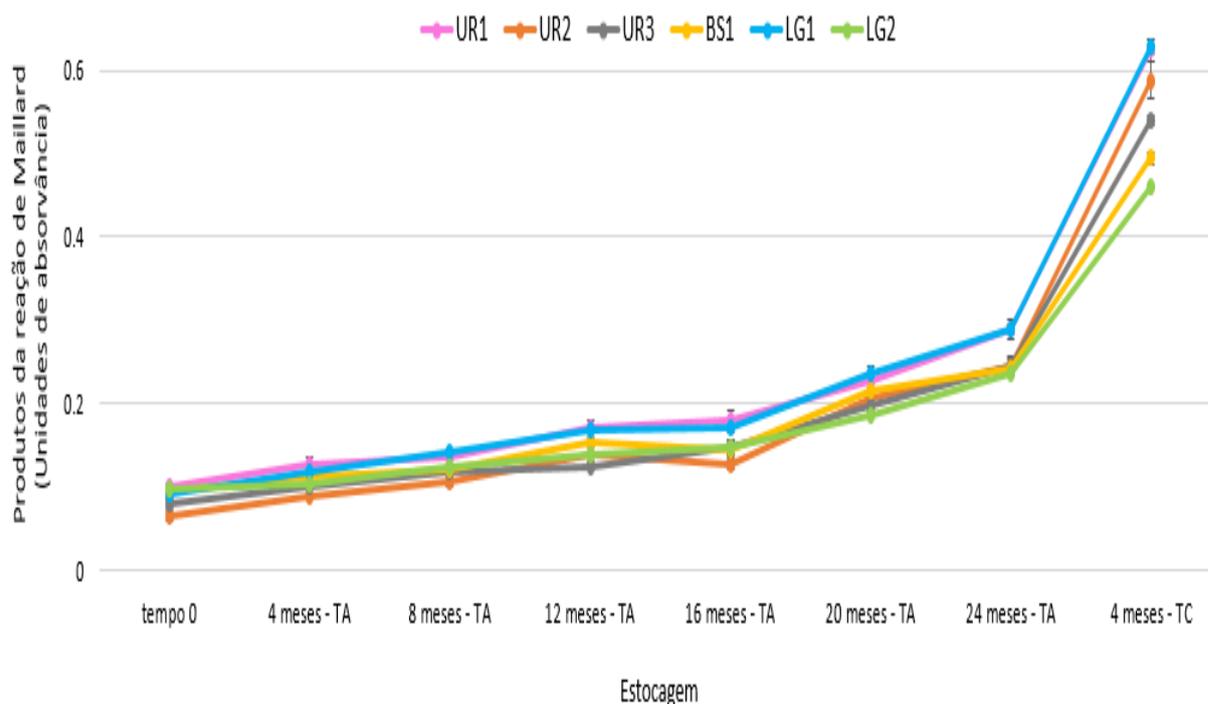
### 3.3 Produtos da reação de Maillard

Os produtos originados por meio da reação de Maillard contribuem fortemente para o escurecimento não enzimático do mel (RUFÍAN-HENARES; PASTORIZA, 2016; SHAPLA et al., 2018). Relacionados ao aquecimento e estocagem prolongada, muitos desses compostos são considerados indicadores da perda de qualidade do mel (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012;

MOREIRA et al., 2010; SERAGLIO et al., 2019). No entanto, os MRP também podem contribuir para sua capacidade antioxidante (NAYIK; NANDA, 2016a, 2016c; TURKMEN et al., 2006).

O teor de MRP dos méis de melato de bracinga avaliados nesse estudo durante o seu armazenamento e condições de temperatura são apresentados na Figura 4.2 (e Anexo G).

Figura 4.2 – Teor de produtos da reação de Maillard de méis de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento



Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ .

Fonte: Próprio autor (2019).

De acordo com a Figura 4.2, os teores de MRP nos méis de melato de bracinga foram relativamente próximos entre si no tempo zero, variando de  $0,065 \pm 0,005$  a  $0,100 \pm 0,004$  UA.

Com relação às condições de armazenamento estudadas, foi verificado um aumento gradual do teor de MRP ao longo da estocagem dos méis a temperatura ambiente. Após 24 meses de estocagem, o teor de MRP foi cerca de três vezes maior que o teor encontrado no tempo zero. A estocagem dos méis em temperatura controlada de 40 °C por quatro meses resultou na intensificação da formação dos MRP, sendo observado um aumento de cerca de nove vezes quando comparado ao teor encontrado no tempo zero e entorno de duas vezes maior

quando confrontado com o teor verificado após 24 meses de estocagem em temperatura ambiente.

O aumento da concentração de MRP no mel é um processo naturalmente esperado. São encontrados no mel, inclusive no mel de melato de bracatinga, compostos como açúcares redutores, aminoácidos, proteínas, ácidos orgânicos e minerais (AZEVEDO et al., 2017a, 2017b; BERGAMO et al., 2018, 2019a; BRUGNEROTTO et al., 2019). A presença desses compostos viabiliza as reações de escurecimento não enzimático, como as reações de Maillard, as quais são intensificadas em maiores temperaturas e tempos de estocagem a que o mel é exposto (RUFÍÁN-HENARES; PASTORIZA, 2016; SHAPLA et al., 2018). Portanto, os resultados encontrados neste estudo confirmam a influência da estocagem prolongada e da temperatura alta (40 °C) na formação de MRP no mel de melato de bracatinga. Sendo assim, esse parâmetro pode ser sugerido como um potencial indicador de aquecimento prolongado e estocagem prolongada do mel de melato de bracatinga.

### 3.4 Compostos fenólicos

Devido às propriedades antioxidantes, os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela presença de bioatividade em méis (CAN et al., 2015; ESCUREDO et al., 2013; SERAGLIO et al., 2019).

Na Tabela 4.2 é apresentado o teor dos compostos fenólicos quantificados nos méis de melato de bracatinga durante o seu armazenamento.

Tabela 4.2 – Teor de compostos fenólicos ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) quantificados em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (continua)

| Composto<br>fenólico | Amostra | Armazenamento               |                             |                             |                             |                             |                             |                            |                           |
|----------------------|---------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                      |         | Tempo 0                     | 4 meses – TA                | 8 meses – TA                | 12 meses – TA               | 16 meses – TA               | 20 meses – TA               | 24 meses – TA              | 4 meses – TC              |
| <i>Flavonoides</i>   |         |                             |                             |                             |                             |                             |                             |                            |                           |
| Apigenina            | UR1     | 7,60 ± 0,92 <sup>a</sup>    | 8,20 ± 0,80 <sup>a</sup>    | 7,47 ± 0,31 <sup>a</sup>    | 8,00 ± 0,72 <sup>a</sup>    | 7,43 ± 0,21 <sup>a</sup>    | 7,10 ± 0,96 <sup>a</sup>    | 7,00 ± 0,92 <sup>a</sup>   | 4,20 ± 0,30 <sup>b</sup>  |
|                      | UR2     | 5,67 ± 0,64 <sup>a</sup>    | 4,93 ± 0,76 <sup>a</sup>    | 4,80 ± 0,53 <sup>ab</sup>   | 4,60 ± 0,53 <sup>ab</sup>   | 5,20 ± 0,35 <sup>a</sup>    | 4,90 ± 0,17 <sup>a</sup>    | 5,00 ± 0,69 <sup>a</sup>   | 3,40 ± 0,17 <sup>b</sup>  |
|                      | UR3     | 6,07 ± 0,92 <sup>a</sup>    | 5,13 ± 0,31 <sup>ab</sup>   | 5,60 ± 0,53 <sup>a</sup>    | 5,40 ± 0,40 <sup>ab</sup>   | 5,30 ± 0,62 <sup>ab</sup>   | 5,50 ± 0,35 <sup>ab</sup>   | 5,50 ± 0,46 <sup>ab</sup>  | 4,00 ± 0,62 <sup>b</sup>  |
|                      | BS1     | 22,07 ± 2,00 <sup>bc</sup>  | 23,93 ± 1,21 <sup>abc</sup> | 29,67 ± 3,64 <sup>ab</sup>  | 30,60 ± 3,60 <sup>a</sup>   | 31,70 ± 4,59 <sup>a</sup>   | 30,10 ± 0,92 <sup>a</sup>   | 29,10 ± 2,38 <sup>ab</sup> | 19,10 ± 1,93 <sup>c</sup> |
|                      | LG1     | 35,60 ± 1,91 <sup>bcd</sup> | 46,93 ± 3,72 <sup>a</sup>   | 41,60 ± 2,78 <sup>ab</sup>  | 38,67 ± 4,28 <sup>abc</sup> | 36,70 ± 4,71 <sup>bcd</sup> | 28,40 ± 2,42 <sup>d</sup>   | 31,40 ± 1,83 <sup>cd</sup> | 19,30 ± 1,81 <sup>c</sup> |
|                      | LG2     | 45,00 ± 4,93 <sup>a</sup>   | 39,60 ± 0,20 <sup>ab</sup>  | 40,40 ± 4,33 <sup>ab</sup>  | 39,00 ± 5,70 <sup>ab</sup>  | 42,50 ± 1,65 <sup>ab</sup>  | 34,40 ± 3,80 <sup>b</sup>   | 35,20 ± 1,48 <sup>b</sup>  | 23,10 ± 0,60 <sup>c</sup> |
| Crisina              | UR1     | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                      | UR2     | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                      | UR3     | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                      | BS1     | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                      | LG1     | 203,87 ± 6,68 <sup>ab</sup> | 220,53 ± 7,58 <sup>a</sup>  | 189,73 ± 6,66 <sup>b</sup>  | 141,73 ± 13,48 <sup>c</sup> | 125,73 ± 2,01 <sup>cd</sup> | 108,73 ± 3,91 <sup>de</sup> | 102,87 ± 1,62 <sup>c</sup> | 67,93 ± 2,55 <sup>f</sup> |
|                      | LG2     | 112,33 ± 5,10 <sup>a</sup>  | 99,47 ± 4,36 <sup>b</sup>   | 88,67 ± 4,44 <sup>bc</sup>  | 79,53 ± 7,71 <sup>c</sup>   | 66,87 ± 2,19 <sup>d</sup>   | 60,93 ± 1,10 <sup>d</sup>   | 57,87 ± 0,64 <sup>d</sup>  | 39,20 ± 1,56 <sup>c</sup> |
| Galangina            | UR1     | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                        | <LD                       |
|                      | UR2     | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                        | <LD                       |
|                      | UR3     | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                        | <LD                       |
|                      | BS1     | 21,40 ± 0,92 <sup>ab</sup>  | 22,73 ± 1,33 <sup>a</sup>   | 19,40 ± 1,22 <sup>abc</sup> | 17,73 ± 1,55 <sup>c</sup>   | 18,80 ± 1,71 <sup>bc</sup>  | 19,67 ± 1,17 <sup>abc</sup> | 17,67 ± 1,10 <sup>c</sup>  | 12,53 ± 0,76 <sup>d</sup> |
|                      | LG1     | 33,40 ± 2,55 <sup>abc</sup> | 38,47 ± 0,81 <sup>a</sup>   | 36,73 ± 5,18 <sup>ab</sup>  | 36,27 ± 3,82 <sup>ab</sup>  | 33,00 ± 2,34 <sup>abc</sup> | 29,70 ± 2,38 <sup>bc</sup>  | 28,00 ± 0,87 <sup>c</sup>  | 17,90 ± 0,75 <sup>d</sup> |
|                      | LG2     | 39,80 ± 4,36 <sup>a</sup>   | 39,27 ± 5,71 <sup>a</sup>   | 39,40 ± 3,14 <sup>a</sup>   | 34,00 ± 4,70 <sup>a</sup>   | 39,30 ± 1,08 <sup>a</sup>   | 30,90 ± 2,40 <sup>a</sup>   | 31,10 ± 0,92 <sup>a</sup>  | 18,90 ± 2,46 <sup>b</sup> |
| Hesperidina          | UR1     | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                      | UR2     | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                      | UR3     | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                      | BS1     | 3,47 ± 0,31 <sup>a</sup>    | 3,60 ± 0,40 <sup>a</sup>    | 2,87 ± 0,12 <sup>b</sup>    | 2,40 ± 0,20 <sup>b</sup>    | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                        | <LD                       |
|                      | LG1     | 9,07 ± 0,95 <sup>a</sup>    | 7,33 ± 0,50 <sup>b</sup>    | 7,20 ± 0,35 <sup>b</sup>    | 6,60 ± 0,72 <sup>bc</sup>   | 5,50 ± 0,35 <sup>cd</sup>   | 5,00 ± 0,35 <sup>d</sup>    | 4,60 ± 0,46 <sup>d</sup>   | <LQ                       |
|                      | LG2     | 3,00 ± 0,20 <sup>ab</sup>   | 3,40 ± 0,53 <sup>a</sup>    | 3,07 ± 0,23 <sup>a</sup>    | 2,40 ± 0,20 <sup>b</sup>    | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                        | <LD                       |
| Isoramnetina         | UR1     | 16,20 ± 0,72 <sup>a</sup>   | 16,00 ± 0,35 <sup>ab</sup>  | 14,93 ± 0,50 <sup>bc</sup>  | 14,53 ± 0,50 <sup>c</sup>   | 12,23 ± 0,31 <sup>d</sup>   | 10,47 ± 0,31 <sup>c</sup>   | 10,20 ± 0,20 <sup>c</sup>  | 5,53 ± 0,31 <sup>f</sup>  |
|                      | UR2     | 22,73 ± 0,50 <sup>a</sup>   | 23,13 ± 0,12 <sup>a</sup>   | 20,33 ± 0,46 <sup>b</sup>   | 19,60 ± 0,53 <sup>b</sup>   | 15,07 ± 0,76 <sup>c</sup>   | 12,73 ± 0,31 <sup>d</sup>   | 11,53 ± 0,12 <sup>d</sup>  | 6,53 ± 0,50 <sup>c</sup>  |
|                      | UR3     | 29,80 ± 0,35 <sup>a</sup>   | 31,40 ± 0,80 <sup>a</sup>   | 31,87 ± 0,81 <sup>a</sup>   | 29,60 ± 2,09 <sup>a</sup>   | 23,93 ± 1,30 <sup>b</sup>   | 20,00 ± 0,87 <sup>c</sup>   | 17,60 ± 0,40 <sup>c</sup>  | 10,33 ± 0,12 <sup>d</sup> |
|                      | BS1     | 13,40 ± 0,35 <sup>a</sup>   | 12,73 ± 0,50 <sup>a</sup>   | 12,53 ± 0,31 <sup>a</sup>   | 11,27 ± 0,23 <sup>b</sup>   | 10,20 ± 0,20 <sup>c</sup>   | 9,27 ± 0,58 <sup>c</sup>    | 8,00 ± 0,20 <sup>d</sup>   | 5,93 ± 0,12 <sup>c</sup>  |
|                      | LG1     | 28,67 ± 0,64 <sup>b</sup>   | 32,53 ± 0,64 <sup>a</sup>   | 32,80 ± 0,92 <sup>a</sup>   | 27,47 ± 1,53 <sup>b</sup>   | 21,67 ± 0,31 <sup>c</sup>   | 17,67 ± 0,61 <sup>d</sup>   | 16,87 ± 0,31 <sup>d</sup>  | 8,20 ± 0,20 <sup>c</sup>  |
|                      | LG2     | 27,07 ± 1,55 <sup>a</sup>   | 26,20 ± 0,35 <sup>a</sup>   | 25,67 ± 0,42 <sup>a</sup>   | 21,20 ± 1,64 <sup>b</sup>   | 18,00 ± 0,20 <sup>c</sup>   | 15,67 ± 0,42 <sup>c</sup>   | 15,60 ± 0,20 <sup>c</sup>  | 9,87 ± 0,81 <sup>d</sup>  |

Tabela 4.2 – Teor de compostos fenólicos ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) quantificados em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (continuação)

| Composto fenólico | Amostra | Armazenamento               |                             |                             |                             |                             |                             |                            |                           |
|-------------------|---------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                   |         | Tempo 0                     | 4 meses – TA                | 8 meses – TA                | 12 meses – TA               | 16 meses – TA               | 20 meses – TA               | 24 meses – TA              | 4 meses – TC              |
| Kaempferol        | UR1     | 38,27 ± 1,60 <sup>a</sup>   | 35,33 ± 5,22 <sup>ab</sup>  | 36,33 ± 1,96 <sup>ab</sup>  | 34,47 ± 2,27 <sup>ab</sup>  | 30,70 ± 2,52 <sup>bc</sup>  | 26,50 ± 1,25 <sup>c</sup>   | 26,50 ± 1,48 <sup>c</sup>  | 12,90 ± 0,52 <sup>d</sup> |
|                   | UR2     | 35,87 ± 1,14 <sup>a</sup>   | 33,27 ± 3,26 <sup>ab</sup>  | 30,33 ± 3,52 <sup>ab</sup>  | 27,73 ± 1,33 <sup>bc</sup>  | 22,90 ± 0,75 <sup>cd</sup>  | 21,90 ± 1,31 <sup>d</sup>   | 19,60 ± 1,76 <sup>d</sup>  | 12,90 ± 0,52 <sup>e</sup> |
|                   | UR3     | 25,47 ± 0,92 <sup>a</sup>   | 21,87 ± 2,25 <sup>ab</sup>  | 19,53 ± 1,36 <sup>b</sup>   | 19,27 ± 1,42 <sup>b</sup>   | 19,90 ± 1,51 <sup>b</sup>   | 18,40 ± 0,75 <sup>b</sup>   | 18,90 ± 1,04 <sup>b</sup>  | 12,90 ± 0,52 <sup>e</sup> |
|                   | BS1     | 33,07 ± 2,57 <sup>a</sup>   | 29,20 ± 0,72 <sup>a</sup>   | 28,60 ± 0,87 <sup>a</sup>   | 23,47 ± 3,23 <sup>b</sup>   | 23,60 ± 0,75 <sup>b</sup>   | 21,70 ± 1,05 <sup>bc</sup>  | 17,80 ± 0,92 <sup>cd</sup> | 13,70 ± 0,17 <sup>d</sup> |
|                   | LG1     | 68,20 ± 3,67 <sup>a</sup>   | 63,73 ± 4,24 <sup>ab</sup>  | 59,13 ± 8,29 <sup>ab</sup>  | 53,60 ± 6,88 <sup>bc</sup>  | 42,80 ± 4,66 <sup>cd</sup>  | 35,00 ± 2,69 <sup>d</sup>   | 32,70 ± 2,10 <sup>d</sup>  | 16,30 ± 0,75 <sup>e</sup> |
|                   | LG2     | 80,27 ± 1,01 <sup>a</sup>   | 69,80 ± 3,30 <sup>a</sup>   | 74,00 ± 6,54 <sup>a</sup>   | 57,40 ± 7,79 <sup>b</sup>   | 56,50 ± 4,29 <sup>bc</sup>  | 44,30 ± 2,42 <sup>d</sup>   | 45,00 ± 1,56 <sup>cd</sup> | 20,90 ± 1,83 <sup>e</sup> |
| Luteolina         | UR1     | 19,00 ± 0,92 <sup>a</sup>   | 19,60 ± 0,87 <sup>a</sup>   | 18,27 ± 0,23 <sup>a</sup>   | 18,47 ± 0,83 <sup>a</sup>   | 15,33 ± 0,38 <sup>b</sup>   | 13,27 ± 1,03 <sup>c</sup>   | 12,93 ± 0,12 <sup>c</sup>  | 9,13 ± 0,23 <sup>d</sup>  |
|                   | UR2     | 24,20 ± 1,64 <sup>a</sup>   | 22,13 ± 1,21 <sup>ab</sup>  | 22,20 ± 0,87 <sup>ab</sup>  | 21,07 ± 0,70 <sup>b</sup>   | 15,87 ± 1,10 <sup>c</sup>   | 14,20 ± 0,35 <sup>c</sup>   | 13,40 ± 0,40 <sup>c</sup>  | 9,67 ± 0,12 <sup>d</sup>  |
|                   | UR3     | 16,07 ± 0,70 <sup>a</sup>   | 13,40 ± 0,53 <sup>b</sup>   | 13,53 ± 0,42 <sup>b</sup>   | 12,87 ± 1,55 <sup>b</sup>   | 10,13 ± 0,31 <sup>cd</sup>  | 10,27 ± 0,81 <sup>cd</sup>  | 10,80 ± 0,35 <sup>c</sup>  | 8,47 ± 0,12 <sup>d</sup>  |
|                   | BS1     | 42,07 ± 1,81 <sup>b</sup>   | 43,40 ± 0,53 <sup>b</sup>   | 49,27 ± 3,13 <sup>a</sup>   | 45,00 ± 3,74 <sup>ab</sup>  | 40,73 ± 1,72 <sup>bc</sup>  | 39,60 ± 0,87 <sup>bc</sup>  | 36,40 ± 0,87 <sup>c</sup>  | 26,07 ± 0,42 <sup>d</sup> |
|                   | LG1     | 26,13 ± 1,81 <sup>c</sup>   | 29,47 ± 0,31 <sup>abc</sup> | 28,67 ± 0,64 <sup>abc</sup> | 31,93 ± 0,83 <sup>a</sup>   | 31,50 ± 0,52 <sup>a</sup>   | 30,20 ± 1,25 <sup>ab</sup>  | 27,20 ± 1,65 <sup>bc</sup> | 19,30 ± 1,83 <sup>d</sup> |
|                   | LG2     | 56,33 ± 1,94 <sup>ab</sup>  | 57,53 ± 4,20 <sup>ab</sup>  | 58,93 ± 4,00 <sup>a</sup>   | 55,47 ± 3,71 <sup>ab</sup>  | 58,60 ± 0,46 <sup>ab</sup>  | 50,90 ± 1,39 <sup>b</sup>   | 54,40 ± 2,29 <sup>ab</sup> | 34,50 ± 1,37 <sup>e</sup> |
| Naringenina       | UR1     | 24,53 ± 0,83 <sup>a</sup>   | 22,73 ± 0,95 <sup>b</sup>   | 21,13 ± 0,12 <sup>c</sup>   | 19,40 ± 0,40 <sup>d</sup>   | 15,50 ± 0,75 <sup>e</sup>   | 12,53 ± 0,23 <sup>f</sup>   | 11,07 ± 0,23 <sup>f</sup>  | 5,07 ± 0,12 <sup>g</sup>  |
|                   | UR2     | 12,47 ± 0,23 <sup>a</sup>   | 11,27 ± 0,61 <sup>b</sup>   | 10,47 ± 0,12 <sup>b</sup>   | 9,60 ± 0,40 <sup>c</sup>    | 7,47 ± 0,12 <sup>d</sup>    | 6,87 ± 0,12 <sup>de</sup>   | 6,27 ± 0,12 <sup>e</sup>   | 3,93 ± 0,12 <sup>f</sup>  |
|                   | UR3     | 8,00 ± 0,20 <sup>a</sup>    | 7,53 ± 0,31 <sup>ab</sup>   | 7,47 ± 0,12 <sup>ab</sup>   | 6,80 ± 0,53 <sup>bc</sup>   | 6,00 ± 0,35 <sup>cd</sup>   | 5,67 ± 0,31 <sup>d</sup>    | 5,27 ± 0,12 <sup>d</sup>   | 3,00 ± 0,20 <sup>e</sup>  |
|                   | BS1     | 12,93 ± 0,64 <sup>a</sup>   | 11,07 ± 0,50 <sup>b</sup>   | 9,87 ± 0,31 <sup>b</sup>    | 8,60 ± 0,69 <sup>c</sup>    | 7,33 ± 0,23 <sup>d</sup>    | 6,73 ± 0,23 <sup>de</sup>   | 6,00 ± 0,20 <sup>e</sup>   | 3,87 ± 0,31 <sup>f</sup>  |
|                   | LG1     | 64,27 ± 4,63 <sup>b</sup>   | 75,00 ± 4,61 <sup>a</sup>   | 65,13 ± 4,77 <sup>b</sup>   | 49,60 ± 2,60 <sup>c</sup>   | 38,07 ± 0,95 <sup>d</sup>   | 31,20 ± 2,50 <sup>d</sup>   | 31,40 ± 0,35 <sup>d</sup>  | 12,20 ± 0,20 <sup>e</sup> |
|                   | LG2     | 40,87 ± 3,70 <sup>a</sup>   | 33,87 ± 2,80 <sup>b</sup>   | 30,87 ± 2,08 <sup>b</sup>   | 23,33 ± 1,53 <sup>c</sup>   | 21,13 ± 0,64 <sup>cd</sup>  | 16,87 ± 0,58 <sup>d</sup>   | 17,13 ± 0,95 <sup>d</sup>  | 8,87 ± 0,31 <sup>e</sup>  |
| Pinobanksina      | UR1     | 25,67 ± 1,17 <sup>a</sup>   | 23,47 ± 0,58 <sup>b</sup>   | 21,87 ± 1,03 <sup>bc</sup>  | 20,33 ± 0,99 <sup>c</sup>   | 15,87 ± 0,45 <sup>d</sup>   | 13,87 ± 0,31 <sup>de</sup>  | 12,07 ± 0,31 <sup>e</sup>  | 6,60 ± 0,20 <sup>f</sup>  |
|                   | UR2     | 13,93 ± 0,31 <sup>a</sup>   | 12,27 ± 0,31 <sup>b</sup>   | 11,87 ± 0,12 <sup>b</sup>   | 10,80 ± 0,72 <sup>c</sup>   | 8,87 ± 0,12 <sup>d</sup>    | 8,33 ± 0,12 <sup>de</sup>   | 7,87 ± 0,12 <sup>e</sup>   | 4,47 ± 0,12 <sup>f</sup>  |
|                   | UR3     | 9,27 ± 0,31 <sup>a</sup>    | 9,20 ± 0,20 <sup>a</sup>    | 8,87 ± 0,12 <sup>ab</sup>   | 8,20 ± 0,53 <sup>bc</sup>   | 7,47 ± 0,12 <sup>cd</sup>   | 7,07 ± 0,23 <sup>d</sup>    | 6,87 ± 0,12 <sup>d</sup>   | 4,20 ± 0,20 <sup>e</sup>  |
|                   | BS1     | 13,73 ± 0,12 <sup>a</sup>   | 12,33 ± 0,23 <sup>b</sup>   | 11,40 ± 0,40 <sup>c</sup>   | 10,87 ± 0,31 <sup>c</sup>   | 9,07 ± 0,23 <sup>d</sup>    | 8,13 ± 0,23 <sup>e</sup>    | 7,40 ± 0,20 <sup>e</sup>   | 4,47 ± 0,31 <sup>f</sup>  |
|                   | LG1     | 65,87 ± 3,38 <sup>b</sup>   | 78,07 ± 5,06 <sup>a</sup>   | 70,87 ± 4,41 <sup>ab</sup>  | 63,93 ± 2,61 <sup>b</sup>   | 44,47 ± 3,70 <sup>c</sup>   | 31,40 ± 0,92 <sup>d</sup>   | 32,33 ± 0,64 <sup>d</sup>  | 13,60 ± 0,53 <sup>e</sup> |
|                   | LG2     | 33,87 ± 1,70 <sup>a</sup>   | 31,93 ± 0,46 <sup>ab</sup>  | 30,53 ± 0,23 <sup>b</sup>   | 25,00 ± 1,71 <sup>c</sup>   | 22,20 ± 1,11 <sup>c</sup>   | 17,87 ± 0,95 <sup>d</sup>   | 18,53 ± 0,83 <sup>d</sup>  | 10,53 ± 0,46 <sup>e</sup> |
| Pinocembrina      | UR1     | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                   | UR2     | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                   | UR3     | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                   | BS1     | <LQ                         | <LQ                         | <LQ                         | <LD                         | <LD                         | <LD                         | <LD                        | <LD                       |
|                   | LG1     | 208,53 ± 24,05 <sup>b</sup> | 252,80 ± 6,88 <sup>a</sup>  | 199,00 ± 16,80 <sup>b</sup> | 192,93 ± 19,96 <sup>b</sup> | 177,60 ± 7,63 <sup>bc</sup> | 155,07 ± 3,78 <sup>cd</sup> | 137,60 ± 3,60 <sup>d</sup> | 62,53 ± 3,49 <sup>e</sup> |
|                   | LG2     | 96,60 ± 1,59 <sup>a</sup>   | 87,00 ± 3,89 <sup>b</sup>   | 79,47 ± 2,10 <sup>bc</sup>  | 74,53 ± 1,15 <sup>c</sup>   | 81,20 ± 4,54 <sup>bc</sup>  | 74,00 ± 4,72 <sup>c</sup>   | 73,60 ± 1,06 <sup>c</sup>  | 38,67 ± 1,22 <sup>d</sup> |
| Quercetina        | UR1     | 34,53 ± 0,42 <sup>a</sup>   | 34,07 ± 0,12 <sup>a</sup>   | 30,27 ± 0,42 <sup>b</sup>   | 29,87 ± 0,23 <sup>b</sup>   | 25,20 ± 0,26 <sup>c</sup>   | 20,67 ± 0,31 <sup>d</sup>   | 19,07 ± 0,23 <sup>c</sup>  | 12,20 ± 0,20 <sup>f</sup> |
|                   | UR2     | 45,40 ± 0,87 <sup>a</sup>   | 42,53 ± 1,47 <sup>a</sup>   | 38,40 ± 0,72 <sup>b</sup>   | 36,40 ± 0,72 <sup>b</sup>   | 27,80 ± 2,09 <sup>c</sup>   | 22,40 ± 0,72 <sup>d</sup>   | 20,47 ± 0,31 <sup>d</sup>  | 12,47 ± 0,12 <sup>e</sup> |
|                   | UR3     | 53,93 ± 1,81 <sup>a</sup>   | 49,60 ± 0,53 <sup>a</sup>   | 48,60 ± 2,11 <sup>a</sup>   | 42,87 ± 3,63 <sup>b</sup>   | 37,53 ± 3,00 <sup>b</sup>   | 31,00 ± 0,40 <sup>c</sup>   | 28,33 ± 1,10 <sup>c</sup>  | 16,67 ± 0,12 <sup>d</sup> |
|                   | BS1     | 36,00 ± 0,72 <sup>a</sup>   | 31,60 ± 0,69 <sup>b</sup>   | 29,67 ± 0,61 <sup>c</sup>   | 26,87 ± 0,50 <sup>d</sup>   | 21,40 ± 0,35 <sup>e</sup>   | 18,93 ± 0,12 <sup>f</sup>   | 16,87 ± 0,12 <sup>g</sup>  | 12,73 ± 0,12 <sup>h</sup> |
|                   | LG1     | 72,60 ± 1,59 <sup>a</sup>   | 73,60 ± 3,10 <sup>a</sup>   | 70,20 ± 0,60 <sup>a</sup>   | 59,53 ± 5,14 <sup>b</sup>   | 46,07 ± 1,36 <sup>c</sup>   | 35,67 ± 1,53 <sup>d</sup>   | 32,40 ± 0,53 <sup>d</sup>  | 15,47 ± 0,23 <sup>e</sup> |
|                   | LG2     | 58,87 ± 1,03 <sup>a</sup>   | 56,53 ± 0,50 <sup>a</sup>   | 56,40 ± 0,35 <sup>a</sup>   | 47,73 ± 2,86 <sup>b</sup>   | 39,13 ± 0,12 <sup>c</sup>   | 32,40 ± 0,20 <sup>d</sup>   | 31,13 ± 0,50 <sup>d</sup>  | 17,13 ± 0,31 <sup>e</sup> |

Tabela 4.2 – Teor de compostos fenólicos ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) quantificados em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (continuação)

| Composto<br>fenólico                         | Amostra | Armazenamento               |                              |                              |                              |                              |                             |                             |                             |
|--|---------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|  |         | Tempo 0                     | 4 meses – TA                 | 8 meses – TA                 | 12 meses – TA                | 16 meses – TA                | 20 meses – TA               | 24 meses – TA               | 4 meses – TC                |
| Rutina/<br>composto<br>desconhecido          | UR1     | 17,27 ± 1,29 <sup>ab</sup>  | 18,07 ± 1,30 <sup>a</sup>    | 17,80 ± 0,87 <sup>a</sup>    | 17,13 ± 1,30 <sup>abc</sup>  | 16,37 ± 0,40 <sup>abc</sup>  | 14,67 ± 0,83 <sup>bc</sup>  | 14,40 ± 1,06 <sup>c</sup>   | 6,00 ± 0,40 <sup>d</sup>    |
|  | UR2     | 21,27 ± 0,95 <sup>a</sup>   | 19,40 ± 1,20 <sup>ab</sup>   | 17,93 ± 0,58 <sup>bc</sup>   | 17,47 ± 1,20 <sup>bcd</sup>  | 16,17 ± 0,58 <sup>cd</sup>   | 15,00 ± 0,50 <sup>dc</sup>  | 13,50 ± 1,00 <sup>e</sup>   | 6,17 ± 0,29 <sup>f</sup>    |
|  | UR3     | 26,27 ± 0,31 <sup>a</sup>   | 27,13 ± 0,31 <sup>a</sup>    | 26,93 ± 0,64 <sup>a</sup>    | 25,07 ± 0,31 <sup>ab</sup>   | 22,40 ± 1,73 <sup>bc</sup>   | 21,60 ± 0,60 <sup>c</sup>   | 18,60 ± 1,59 <sup>d</sup>   | 10,60 ± 0,35 <sup>e</sup>   |
|  | BS1     | 27,93 ± 0,42 <sup>a</sup>   | 23,60 ± 0,60 <sup>b</sup>    | 21,33 ± 0,90 <sup>c</sup>    | 18,13 ± 0,60 <sup>d</sup>    | 16,13 ± 0,61 <sup>e</sup>    | 14,27 ± 0,23 <sup>f</sup>   | 12,40 ± 0,69 <sup>g</sup>   | 5,33 ± 0,23 <sup>h</sup>    |
|  | LG1     | 83,73 ± 5,46 <sup>a</sup>   | 80,67 ± 1,40 <sup>ab</sup>   | 73,73 ± 1,63 <sup>b</sup>    | 61,27 ± 1,40 <sup>c</sup>    | 47,87 ± 2,66 <sup>d</sup>    | 43,33 ± 3,23 <sup>dc</sup>  | 36,00 ± 2,00 <sup>e</sup>   | 13,60 ± 0,80 <sup>f</sup>   |
|  | LG2     | 45,47 ± 1,62 <sup>a</sup>   | 44,40 ± 1,44 <sup>a</sup>    | 41,40 ± 2,27 <sup>a</sup>    | 35,40 ± 1,44 <sup>b</sup>    | 32,67 ± 1,15 <sup>bc</sup>   | 29,83 ± 1,04 <sup>c</sup>   | 28,50 ± 1,50 <sup>c</sup>   | 12,67 ± 0,58 <sup>d</sup>   |
| <i>Aldeídos<br/>derivados da<br/>lignina</i> |         |                             |                              |                              |                              |                              |                             |                             |                             |
| Coniferaldeído                               | UR1     | 8,40 ± 1,20                 | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
|  | UR2     | 4,60 ± 0,40                 | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
|  | UR3     | 8,73 ± 1,10                 | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
|  | BS1     | 3,67 ± 0,31                 | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
|  | LG1     | <LQ                         | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
|  | LG2     | 29,73 ± 2,39                | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
| Siringaldeído                                | UR1     | 16,33 ± 2,58                | <LQ                          | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
|  | UR2     | 14,87 ± 2,00 <sup>a</sup>   | 5,60 ± 0,87 <sup>b</sup>     | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
|  | UR3     | 16,80 ± 2,20 <sup>a</sup>   | 7,53 ± 1,10 <sup>b</sup>     | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
|  | BS1     | 13,67 ± 1,94                | <LQ                          | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
|  | LG1     | 18,13 ± 2,80 <sup>a</sup>   | 10,53 ± 0,83 <sup>b</sup>    | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
|  | LG2     | 22,77 ± 2,08 <sup>a</sup>   | 12,93 ± 0,70 <sup>b</sup>    | <LQ                          | <LD                          | <LD                          | <LD                         | <LD                         | <LD                         |
| <i>Ácidos fenólicos</i>                      |         |                             |                              |                              |                              |                              |                             |                             |                             |
| Ácido benzoico                               | UR1     | 415,60 ± 51,69 <sup>a</sup> | 354,47 ± 54,36 <sup>a</sup>  | 372,27 ± 40,27 <sup>a</sup>  | 376,33 ± 18,59 <sup>a</sup>  | 347,00 ± 36,59 <sup>a</sup>  | 339,03 ± 20,12 <sup>a</sup> | 318,97 ± 34,54 <sup>a</sup> | 325,73 ± 30,91 <sup>a</sup> |
|  | UR2     | 341,47 ± 5,30 <sup>a</sup>  | 304,07 ± 42,22 <sup>ab</sup> | 297,07 ± 28,74 <sup>ab</sup> | 269,20 ± 38,52 <sup>ab</sup> | 280,20 ± 24,09 <sup>ab</sup> | 247,20 ± 20,40 <sup>b</sup> | 259,60 ± 29,37 <sup>b</sup> | 235,80 ± 22,20 <sup>b</sup> |
|  | UR3     | 432,07 ± 35,58 <sup>a</sup> | 351,93 ± 53,61 <sup>a</sup>  | 315,07 ± 54,84 <sup>a</sup>  | 345,60 ± 50,23 <sup>a</sup>  | 315,67 ± 32,33 <sup>a</sup>  | 334,00 ± 55,75 <sup>a</sup> | 320,67 ± 43,10 <sup>a</sup> | 355,33 ± 53,53 <sup>a</sup> |
|  | BS1     | 471,93 ± 40,42 <sup>a</sup> | 415,73 ± 51,75 <sup>a</sup>  | 402,27 ± 68,00 <sup>a</sup>  | 434,87 ± 85,76 <sup>a</sup>  | 383,80 ± 43,36 <sup>a</sup>  | 409,80 ± 26,58 <sup>a</sup> | 370,40 ± 54,39 <sup>a</sup> | 374,20 ± 50,93 <sup>a</sup> |
|  | LG1     | 802,13 ± 56,76 <sup>a</sup> | 736,67 ± 30,25 <sup>a</sup>  | 750,07 ± 22,29 <sup>a</sup>  | 738,40 ± 44,64 <sup>a</sup>  | 741,83 ± 118,45 <sup>a</sup> | 723,67 ± 95,04 <sup>a</sup> | 713,50 ± 21,07 <sup>a</sup> | 725,50 ± 99,94 <sup>a</sup> |
|  | LG2     | 463,40 ± 80,15 <sup>a</sup> | 420,53 ± 31,19 <sup>a</sup>  | 381,13 ± 52,86 <sup>a</sup>  | 353,00 ± 58,20 <sup>a</sup>  | 387,80 ± 60,49 <sup>a</sup>  | 333,80 ± 49,10 <sup>a</sup> | 355,00 ± 70,55 <sup>a</sup> | 356,40 ± 61,80 <sup>a</sup> |
| Ácido cafeico                                | UR1     | 65,07 ± 1,55 <sup>a</sup>   | 62,87 ± 7,26 <sup>a</sup>    | 60,27 ± 1,33 <sup>a</sup>    | 59,67 ± 2,66 <sup>a</sup>    | 48,67 ± 3,21 <sup>b</sup>    | 39,00 ± 1,31 <sup>b</sup>   | 42,27 ± 3,00 <sup>b</sup>   | 22,13 ± 3,06 <sup>c</sup>   |
|  | UR2     | 73,93 ± 4,15 <sup>a</sup>   | 73,20 ± 2,27 <sup>a</sup>    | 66,27 ± 1,42 <sup>ab</sup>   | 62,87 ± 4,13 <sup>b</sup>    | 50,20 ± 3,70 <sup>c</sup>    | 48,07 ± 3,90 <sup>c</sup>   | 35,93 ± 4,08 <sup>d</sup>   | 21,93 ± 2,83 <sup>c</sup>   |
|  | UR3     | 155,80 ± 0,53 <sup>a</sup>  | 150,33 ± 2,91 <sup>a</sup>   | 140,73 ± 2,16 <sup>ab</sup>  | 128,93 ± 11,91 <sup>b</sup>  | 103,00 ± 3,98 <sup>c</sup>   | 90,93 ± 5,14 <sup>cd</sup>  | 85,40 ± 5,48 <sup>d</sup>   | 50,93 ± 5,49 <sup>c</sup>   |
|  | BS1     | 70,07 ± 2,00 <sup>a</sup>   | 66,67 ± 0,81 <sup>a</sup>    | 59,40 ± 1,91 <sup>b</sup>    | 52,93 ± 1,50 <sup>b</sup>    | 43,13 ± 3,35 <sup>c</sup>    | 33,47 ± 3,31 <sup>d</sup>   | 31,73 ± 2,48 <sup>d</sup>   | 20,53 ± 2,08 <sup>c</sup>   |
|  | LG1     | 85,80 ± 6,36 <sup>b</sup>   | 106,40 ± 1,44 <sup>a</sup>   | 105,73 ± 4,12 <sup>a</sup>   | 102,60 ± 6,50 <sup>a</sup>   | 87,00 ± 5,81 <sup>b</sup>    | 72,40 ± 2,62 <sup>c</sup>   | 58,93 ± 5,11 <sup>d</sup>   | 36,87 ± 2,91 <sup>c</sup>   |
|  | LG2     | 133,40 ± 4,76 <sup>ab</sup> | 147,53 ± 4,74 <sup>a</sup>   | 143,53 ± 6,24 <sup>a</sup>   | 118,33 ± 7,43 <sup>bc</sup>  | 103,80 ± 7,37 <sup>cd</sup>  | 90,47 ± 2,05 <sup>d</sup>   | 88,67 ± 7,86 <sup>d</sup>   | 49,60 ± 4,08 <sup>c</sup>   |

Tabela 4.2 – Teor de compostos fenólicos ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) quantificados em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (continuação)

| Composto<br>fenólico            | Amostra | Armazenamento                 |                               |                              |                                |                               |                              |                              |                              |
|---------------------------------|---------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                                 |         | Tempo 0                       | 4 meses – TA                  | 8 meses – TA                 | 12 meses – TA                  | 16 meses – TA                 | 20 meses – TA                | 24 meses – TA                | 4 meses – TC                 |
| Ácido<br>clorogênico            | UR1     | 62,60 ± 5,63 <sup>a</sup>     | 66,07 ± 2,21 <sup>a</sup>     | 61,60 ± 2,27 <sup>a</sup>    | 63,07 ± 6,36 <sup>a</sup>      | 61,57 ± 2,81 <sup>a</sup>     | 59,80 ± 3,47 <sup>ab</sup>   | 56,80 ± 3,33 <sup>ab</sup>   | 49,80 ± 0,40 <sup>b</sup>    |
|                                 | UR2     | 65,00 ± 5,17 <sup>ab</sup>    | 63,13 ± 2,25 <sup>ab</sup>    | 68,13 ± 3,19 <sup>a</sup>    | 63,53 ± 3,10 <sup>ab</sup>     | 58,73 ± 1,67 <sup>ab</sup>    | 58,67 ± 0,81 <sup>ab</sup>   | 56,33 ± 6,57 <sup>bc</sup>   | 46,87 ± 0,50 <sup>c</sup>    |
|                                 | UR3     | 158,33 ± 10,43 <sup>ab</sup>  | 179,07 ± 5,97 <sup>a</sup>    | 172,67 ± 7,49 <sup>ab</sup>  | 170,73 ± 9,65 <sup>ab</sup>    | 168,27 ± 7,00 <sup>ab</sup>   | 159,87 ± 14,77 <sup>ab</sup> | 168,67 ± 7,03 <sup>ab</sup>  | 152,47 ± 9,08 <sup>b</sup>   |
|                                 | BS1     | 98,40 ± 8,37 <sup>ab</sup>    | 103,33 ± 15,02 <sup>ab</sup>  | 113,07 ± 3,86 <sup>a</sup>   | 112,33 ± 6,02 <sup>a</sup>     | 101,47 ± 3,06 <sup>ab</sup>   | 92,33 ± 9,30 <sup>ab</sup>   | 83,33 ± 11,27 <sup>b</sup>   | 88,00 ± 1,06 <sup>b</sup>    |
|                                 | LG1     | 57,67 ± 3,24 <sup>bcde</sup>  | 60,60 ± 1,06 <sup>abcd</sup>  | 67,60 ± 5,72 <sup>ab</sup>   | 68,33 ± 3,97 <sup>a</sup>      | 61,87 ± 1,94 <sup>abc</sup>   | 56,07 ± 2,04 <sup>cde</sup>  | 51,73 ± 5,35 <sup>de</sup>   | 48,73 ± 1,51 <sup>c</sup>    |
|                                 | LG2     | 109,00 ± 4,61 <sup>b</sup>    | 118,80 ± 11,28 <sup>ab</sup>  | 135,73 ± 6,63 <sup>a</sup>   | 114,73 ± 16,19 <sup>ab</sup>   | 113,33 ± 2,12 <sup>ab</sup>   | 99,67 ± 3,91 <sup>b</sup>    | 105,27 ± 5,16 <sup>b</sup>   | 98,60 ± 4,08 <sup>b</sup>    |
| Ácido <i>p</i> -cumárico        | UR1     | 54,80 ± 4,60 <sup>c</sup>     | 59,80 ± 7,02 <sup>c</sup>     | 63,47 ± 3,56 <sup>bc</sup>   | 74,47 ± 0,95 <sup>a</sup>      | 75,33 ± 2,52 <sup>a</sup>     | 74,00 ± 1,74 <sup>a</sup>    | 71,47 ± 0,64 <sup>ab</sup>   | 56,67 ± 1,03 <sup>c</sup>    |
|                                 | UR2     | 53,53 ± 3,31 <sup>d</sup>     | 61,33 ± 1,45 <sup>c</sup>     | 68,07 ± 2,00 <sup>b</sup>    | 78,27 ± 2,34 <sup>a</sup>      | 73,20 ± 1,91 <sup>ab</sup>    | 73,93 ± 3,30 <sup>ab</sup>   | 70,27 ± 1,86 <sup>b</sup>    | 54,27 ± 2,14 <sup>d</sup>    |
|                                 | UR3     | 86,13 ± 3,06 <sup>c</sup>     | 92,40 ± 4,65 <sup>c</sup>     | 109,07 ± 6,17 <sup>b</sup>   | 122,27 ± 2,21 <sup>a</sup>     | 118,00 ± 0,92 <sup>ab</sup>   | 113,60 ± 2,42 <sup>ab</sup>  | 114,60 ± 1,93 <sup>ab</sup>  | 94,87 ± 2,90 <sup>c</sup>    |
|                                 | BS1     | 48,87 ± 2,52 <sup>bc</sup>    | 52,33 ± 2,08 <sup>abc</sup>   | 54,47 ± 2,40 <sup>ab</sup>   | 58,73 ± 1,89 <sup>a</sup>      | 57,47 ± 2,41 <sup>a</sup>     | 55,47 ± 2,69 <sup>ab</sup>   | 49,80 ± 1,93 <sup>bc</sup>   | 47,00 ± 3,30 <sup>c</sup>    |
|                                 | LG1     | 60,53 ± 2,97 <sup>c</sup>     | 73,87 ± 1,33 <sup>d</sup>     | 97,27 ± 5,08 <sup>b</sup>    | 107,53 ± 4,46 <sup>a</sup>     | 85,47 ± 3,25 <sup>c</sup>     | 77,87 ± 1,14 <sup>cd</sup>   | 78,73 ± 2,00 <sup>cd</sup>   | 61,67 ± 0,31 <sup>c</sup>    |
|                                 | LG2     | 58,07 ± 2,25 <sup>d</sup>     | 72,07 ± 2,23 <sup>bc</sup>    | 85,53 ± 1,01 <sup>a</sup>    | 84,60 ± 10,86 <sup>ab</sup>    | 79,40 ± 3,98 <sup>ab</sup>    | 73,13 ± 3,40 <sup>abc</sup>  | 74,73 ± 1,10 <sup>abc</sup>  | 65,13 ± 2,00 <sup>cd</sup>   |
| Ácido 3,4-<br>dihidroxibenzoico | UR1     | 436,80 ± 12,87 <sup>a</sup>   | 417,40 ± 13,19 <sup>ab</sup>  | 440,20 ± 2,42 <sup>a</sup>   | 438,67 ± 12,86 <sup>a</sup>    | 411,00 ± 6,56 <sup>ab</sup>   | 395,13 ± 15,28 <sup>bc</sup> | 372,53 ± 22,83 <sup>c</sup>  | 293,33 ± 7,91 <sup>d</sup>   |
|                                 | UR2     | 244,40 ± 5,72 <sup>a</sup>    | 235,33 ± 5,78 <sup>ab</sup>   | 237,47 ± 6,94 <sup>ab</sup>  | 235,20 ± 2,08 <sup>ab</sup>    | 214,20 ± 21,00 <sup>bc</sup>  | 203,73 ± 10,47 <sup>c</sup>  | 188,47 ± 3,30 <sup>c</sup>   | 151,60 ± 2,84 <sup>d</sup>   |
|                                 | UR3     | 215,33 ± 4,80 <sup>ab</sup>   | 217,60 ± 7,54 <sup>ab</sup>   | 226,80 ± 6,32 <sup>a</sup>   | 226,60 ± 8,30 <sup>a</sup>     | 200,27 ± 16,23 <sup>bc</sup>  | 210,47 ± 6,15 <sup>abc</sup> | 189,67 ± 5,85 <sup>c</sup>   | 158,80 ± 3,86 <sup>d</sup>   |
|                                 | BS1     | 185,33 ± 4,29 <sup>ab</sup>   | 189,27 ± 0,99 <sup>ab</sup>   | 197,93 ± 2,86 <sup>a</sup>   | 184,07 ± 11,82 <sup>ab</sup>   | 174,67 ± 22,64 <sup>ab</sup>  | 174,93 ± 4,02 <sup>ab</sup>  | 161,53 ± 8,69 <sup>bc</sup>  | 134,27 ± 2,20 <sup>c</sup>   |
|                                 | LG1     | 171,53 ± 2,77 <sup>a</sup>    | 176,73 ± 4,30 <sup>a</sup>    | 170,00 ± 5,89 <sup>a</sup>   | 176,07 ± 12,07 <sup>a</sup>    | 151,93 ± 5,26 <sup>b</sup>    | 159,20 ± 7,26 <sup>ab</sup>  | 144,33 ± 4,10 <sup>b</sup>   | 114,47 ± 2,34 <sup>c</sup>   |
|                                 | LG2     | 301,93 ± 16,81 <sup>ab</sup>  | 320,93 ± 12,95 <sup>a</sup>   | 325,93 ± 14,51 <sup>a</sup>  | 312,47 ± 12,88 <sup>ab</sup>   | 303,07 ± 1,01 <sup>ab</sup>   | 286,47 ± 14,90 <sup>b</sup>  | 252,13 ± 3,97 <sup>c</sup>   | 238,87 ± 7,04 <sup>c</sup>   |
| Ácido ferúlico                  | UR1     | 80,47 ± 11,10 <sup>a</sup>    | 63,33 ± 7,52 <sup>ab</sup>    | 76,33 ± 7,00 <sup>ab</sup>   | 65,20 ± 11,15 <sup>ab</sup>    | 64,13 ± 4,85 <sup>ab</sup>    | 59,33 ± 2,75 <sup>bc</sup>   | 59,83 ± 5,06 <sup>bc</sup>   | 39,83 ± 2,89 <sup>c</sup>    |
|                                 | UR2     | 71,87 ± 4,92 <sup>a</sup>     | 66,33 ± 5,39 <sup>a</sup>     | 59,93 ± 9,17 <sup>a</sup>    | 68,93 ± 10,37 <sup>a</sup>     | 59,67 ± 7,77 <sup>a</sup>     | 58,50 ± 1,32 <sup>a</sup>    | 62,17 ± 0,76 <sup>a</sup>    | 37,50 ± 2,78 <sup>b</sup>    |
|                                 | UR3     | 86,80 ± 5,14 <sup>a</sup>     | 69,07 ± 8,08 <sup>b</sup>     | 75,33 ± 6,12 <sup>ab</sup>   | 66,33 ± 9,40 <sup>b</sup>      | 63,17 ± 2,31 <sup>bc</sup>    | 63,17 ± 2,55 <sup>bc</sup>   | 64,83 ± 5,06 <sup>b</sup>    | 47,17 ± 2,25 <sup>c</sup>    |
|                                 | BS1     | 62,07 ± 8,16 <sup>a</sup>     | 57,87 ± 4,05 <sup>ab</sup>    | 45,07 ± 3,52 <sup>bc</sup>   | 49,67 ± 6,79 <sup>abc</sup>    | 47,50 ± 0,87 <sup>bc</sup>    | 45,83 ± 3,06 <sup>bc</sup>   | 43,50 ± 3,91 <sup>c</sup>    | 37,83 ± 2,02 <sup>d</sup>    |
|                                 | LG1     | 67,67 ± 8,52 <sup>a</sup>     | 78,73 ± 10,07 <sup>a</sup>    | 80,80 ± 9,50 <sup>a</sup>    | 74,00 ± 5,07 <sup>a</sup>      | 68,33 ± 2,02 <sup>a</sup>     | 65,83 ± 2,08 <sup>a</sup>    | 64,83 ± 2,93 <sup>ab</sup>   | 47,17 ± 5,30 <sup>b</sup>    |
|                                 | LG2     | 103,67 ± 6,64 <sup>a</sup>    | 91,93 ± 1,47 <sup>ab</sup>    | 87,60 ± 12,36 <sup>abc</sup> | 77,33 ± 12,71 <sup>bcd</sup>   | 73,50 ± 3,61 <sup>bcd</sup>   | 64,17 ± 1,61 <sup>de</sup>   | 67,17 ± 7,37 <sup>cde</sup>  | 48,67 ± 5,01 <sup>c</sup>    |
| Ácido gálico                    | UR1     | 70,02 ± 2,76 <sup>a</sup>     | 68,58 ± 3,71 <sup>ab</sup>    | 66,53 ± 2,02 <sup>ab</sup>   | 65,07 ± 2,12 <sup>abc</sup>    | 62,22 ± 1,39 <sup>bc</sup>    | 59,87 ± 2,52 <sup>cd</sup>   | 54,82 ± 1,54 <sup>d</sup>    | 40,36 ± 0,50 <sup>e</sup>    |
|                                 | UR2     | 64,29 ± 3,21 <sup>a</sup>     | 62,29 ± 0,97 <sup>ab</sup>    | 59,16 ± 1,85 <sup>abc</sup>  | 57,62 ± 1,94 <sup>bc</sup>     | 55,44 ± 2,09 <sup>c</sup>     | 53,87 ± 2,29 <sup>c</sup>    | 41,71 ± 1,73 <sup>d</sup>    | 33,16 ± 2,27 <sup>c</sup>    |
|                                 | UR3     | 65,40 ± 0,92 <sup>a</sup>     | 63,58 ± 2,33 <sup>ab</sup>    | 61,13 ± 2,00 <sup>ab</sup>   | 58,31 ± 1,74 <sup>bc</sup>     | 54,11 ± 1,29 <sup>c</sup>     | 54,47 ± 3,49 <sup>c</sup>    | 47,69 ± 1,75 <sup>d</sup>    | 34,78 ± 1,06 <sup>c</sup>    |
|                                 | BS1     | 69,36 ± 2,83 <sup>a</sup>     | 65,67 ± 1,23 <sup>ab</sup>    | 62,38 ± 2,71 <sup>ab</sup>   | 60,11 ± 2,77 <sup>b</sup>      | 59,36 ± 2,79 <sup>b</sup>     | 58,82 ± 3,50 <sup>b</sup>    | 50,78 ± 2,27 <sup>c</sup>    | 42,87 ± 2,77 <sup>d</sup>    |
|                                 | LG1     | 57,67 ± 2,58 <sup>a</sup>     | 55,42 ± 2,73 <sup>ab</sup>    | 53,38 ± 1,23 <sup>abc</sup>  | 50,33 ± 2,34 <sup>bc</sup>     | 51,56 ± 2,55 <sup>bc</sup>    | 48,91 ± 1,87 <sup>c</sup>    | 38,42 ± 0,96 <sup>d</sup>    | 31,42 ± 1,66 <sup>c</sup>    |
|                                 | LG2     | 78,68 ± 1,71 <sup>a</sup>     | 74,16 ± 0,89 <sup>ab</sup>    | 70,59 ± 1,88 <sup>bc</sup>   | 71,27 ± 2,95 <sup>bc</sup>     | 69,04 ± 3,38 <sup>bc</sup>    | 66,58 ± 2,98 <sup>c</sup>    | 56,27 ± 2,37 <sup>d</sup>    | 42,62 ± 2,29 <sup>c</sup>    |
| Ácido salicílico                | UR1     | 205,20 ± 7,03 <sup>abcd</sup> | 226,00 ± 28,06 <sup>ab</sup>  | 217,60 ± 4,10 <sup>abc</sup> | 234,33 ± 5,26 <sup>a</sup>     | 211,00 ± 9,54 <sup>abcd</sup> | 197,93 ± 2,50 <sup>bcd</sup> | 189,27 ± 4,77 <sup>cd</sup>  | 184,87 ± 1,47 <sup>d</sup>   |
|                                 | UR2     | 259,07 ± 2,72 <sup>abc</sup>  | 252,53 ± 6,55 <sup>abc</sup>  | 279,00 ± 3,22 <sup>a</sup>   | 272,33 ± 41,50 <sup>ab</sup>   | 242,67 ± 4,50 <sup>abc</sup>  | 230,93 ± 5,78 <sup>bc</sup>  | 244,67 ± 5,28 <sup>abc</sup> | 227,13 ± 6,01 <sup>c</sup>   |
|                                 | UR3     | 228,40 ± 2,95 <sup>c</sup>    | 241,07 ± 7,06 <sup>bc</sup>   | 280,60 ± 28,41 <sup>ab</sup> | 292,53 ± 33,34 <sup>a</sup>    | 261,20 ± 3,10 <sup>abc</sup>  | 254,00 ± 6,95 <sup>abc</sup> | 257,40 ± 7,79 <sup>abc</sup> | 254,93 ± 4,96 <sup>abc</sup> |
|                                 | BS1     | 241,67 ± 6,59 <sup>b</sup>    | 254,07 ± 10,10 <sup>ab</sup>  | 276,47 ± 9,60 <sup>a</sup>   | 280,27 ± 25,98 <sup>a</sup>    | 231,13 ± 8,88 <sup>b</sup>    | 230,40 ± 3,29 <sup>b</sup>   | 230,27 ± 2,50 <sup>b</sup>   | 224,33 ± 3,65 <sup>b</sup>   |
|                                 | LG1     | 345,00 ± 12,44 <sup>bc</sup>  | 354,33 ± 7,51 <sup>ab</sup>   | 380,33 ± 16,24 <sup>a</sup>  | 387,20 ± 23,76 <sup>a</sup>    | 321,13 ± 3,58 <sup>bcd</sup>  | 320,27 ± 6,92 <sup>cd</sup>  | 317,73 ± 3,90 <sup>cd</sup>  | 310,13 ± 5,43 <sup>d</sup>   |
|                                 | LG2     | 1008,53 ± 20,41 <sup>ab</sup> | 996,20 ± 18,79 <sup>abc</sup> | 1043,20 ± 17,70 <sup>a</sup> | 938,87 ± 145,28 <sup>abc</sup> | 880,00 ± 27,37 <sup>bc</sup>  | 858,13 ± 13,32 <sup>bc</sup> | 851,47 ± 11,50 <sup>c</sup>  | 885,20 ± 8,65 <sup>bc</sup>  |

Tabela 4.2 – Teor de compostos fenólicos ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) quantificados em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (conclusão)

| Composto fenólico | Amostra | Armazenamento                  |                                |                               |                                |                                |                                |                                |                                |
|-------------------|---------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                   |         | Tempo 0                        | 4 meses – TA                   | 8 meses – TA                  | 12 meses – TA                  | 16 meses – TA                  | 20 meses – TA                  | 24 meses – TA                  | 4 meses – TC                   |
| Ácido síngico     | UR1     | 33,33 $\pm$ 3,14 <sup>a</sup>  | 35,13 $\pm$ 4,61 <sup>a</sup>  | 39,33 $\pm$ 2,50 <sup>a</sup> | 38,80 $\pm$ 2,80 <sup>a</sup>  | 38,70 $\pm$ 3,56 <sup>a</sup>  | 43,83 $\pm$ 7,02 <sup>a</sup>  | 39,67 $\pm$ 4,73 <sup>a</sup>  | 38,50 $\pm$ 5,07 <sup>a</sup>  |
|                   | UR2     | 27,07 $\pm$ 1,36 <sup>ab</sup> | 27,07 $\pm$ 3,16 <sup>ab</sup> | 28,67 $\pm$ 0,42 <sup>a</sup> | 26,47 $\pm$ 0,61 <sup>ab</sup> | 23,67 $\pm$ 2,93 <sup>ab</sup> | 22,50 $\pm$ 2,65 <sup>ab</sup> | 21,83 $\pm$ 2,25 <sup>b</sup>  | 21,00 $\pm$ 3,12 <sup>b</sup>  |
|                   | UR3     | 28,00 $\pm$ 4,30 <sup>a</sup>  | 25,47 $\pm$ 1,33 <sup>a</sup>  | 27,60 $\pm$ 0,72 <sup>a</sup> | 30,40 $\pm$ 1,60 <sup>a</sup>  | 26,83 $\pm$ 3,51 <sup>a</sup>  | 30,17 $\pm$ 3,06 <sup>a</sup>  | 30,00 $\pm$ 4,36 <sup>a</sup>  | 24,00 $\pm$ 3,61 <sup>a</sup>  |
|                   | BS1     | 35,07 $\pm$ 1,21 <sup>ab</sup> | 31,53 $\pm$ 3,97 <sup>ab</sup> | 36,60 $\pm$ 2,31 <sup>a</sup> | 32,00 $\pm$ 4,39 <sup>ab</sup> | 29,33 $\pm$ 4,04 <sup>ab</sup> | 25,83 $\pm$ 4,54 <sup>b</sup>  | 26,00 $\pm$ 5,07 <sup>ab</sup> | 26,83 $\pm$ 3,18 <sup>ab</sup> |
|                   | LG1     | 45,47 $\pm$ 6,47 <sup>a</sup>  | 42,13 $\pm$ 3,93 <sup>a</sup>  | 49,33 $\pm$ 2,91 <sup>a</sup> | 44,60 $\pm$ 2,46 <sup>a</sup>  | 41,67 $\pm$ 3,33 <sup>a</sup>  | 50,33 $\pm$ 3,97 <sup>a</sup>  | 49,67 $\pm$ 6,25 <sup>a</sup>  | 44,83 $\pm$ 2,75 <sup>a</sup>  |
|                   | LG2     | 40,40 $\pm$ 1,51 <sup>a</sup>  | 38,67 $\pm$ 5,03 <sup>a</sup>  | 40,93 $\pm$ 0,76 <sup>a</sup> | 39,80 $\pm$ 2,91 <sup>a</sup>  | 45,67 $\pm$ 3,69 <sup>a</sup>  | 38,50 $\pm$ 4,44 <sup>a</sup>  | 42,17 $\pm$ 6,25 <sup>a</sup>  | 44,50 $\pm$ 3,28 <sup>a</sup>  |

Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão;  $n = 3$ ; <sup>a-h</sup> letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor (2019).

Nesse estudo, 32 compostos fenólicos foram investigados nos méis de melato de bracinga durante o seu armazenamento. Dentre esses compostos, oito fenólicos (sinapaldeído, (-)epicatequina, ácido vanílico, (-)epigallocatequina galato, 4-metilumbeliferona, naringina, (+)catequina e ácido sinápico) não foram detectados em nenhuma das amostras (abaixo dos limites de detecção), enquanto o ácido *p*-aminobenzoico apresentou-se abaixo do limite de quantificação nas amostras no tempo zero e abaixo do limite de detecção nas demais amostras.

A Tabela 4.2 demonstrou que 23 compostos fenólicos foram quantificados em pelo menos uma amostra e, destes compostos, 17 fenólicos foram determinados em todas as amostras. Os ácidos benzoico, 3,4-dihidroxibenzoico e salicílico foram os fenólicos majoritários encontrados nas amostras de mel de melato de bracinga, com concentrações variando de  $171,53 \pm 2,77$  a  $1008,53 \pm 20,41 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  no tempo zero. Estes compostos foram reportados previamente como uns dos fenólicos majoritários em méis de melato de bracinga e outros méis de melato como de *Pinus*, *Quercus* e outros comerciais (CAN et al., 2015; HALOUZKA; TARKOWSKI; ZELJKOVIĆ, 2016; SERAGLIO et al., 2016; SILVA et al., 2019a). Os ácidos cafeico, clorogênico, ferúlico, gálico e *p*-cumárico também podem ser destacados, uma vez que estes compostos foram encontrados em concentrações variando de  $48,87 \pm 2,52$  a  $158,33 \pm 10,43 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  nas amostras de mel de melato de bracinga no tempo zero.

Considerando que os compostos fenólicos são moléculas com relativa instabilidade, muito suscetíveis a reações com outros compostos ou à própria degradação, durante o processamento e armazenamento, diversos fatores como temperatura, luz, oxigênio, pH, constituintes da matriz podem afetar diretamente a estabilidade dessa classe (GALANAKIS, 2018). Sendo assim, espera-se que haja mudanças de concentração e perfil dos compostos fenólicos investigados nesse estudo.

Com relação às condições de armazenamento estudadas, foi possível constatar a estabilidade da apigenina e os ácidos benzoico, clorogênico, salicílico e siríngico nas amostras de mel de melato de bracinga durante estocagem por tempos prolongados e em temperatura ambiente. O ácido *p*-cumárico também se apresentou estável, com tendência ao aumento da sua concentração nessa condição de estocagem. Em contrapartida, uma tendência de decréscimo na concentração dos compostos galangina, kaempferol, luteolina, pinocembrin, rutina/composto desconhecido, ácido cafeico, ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido ferúlico e ácido gálico foi observada nas amostras ao longo do armazenamento em temperatura ambiente. Para os demais fenólicos quantificados (crisina, hesperidina, isoramnetina, naringenina, pinobanksina, quercetina, coniferaldeído e siringaldeído), foi verificada significativa instabilidade, com decréscimos de até 50% nas suas concentrações após 24 meses de estocagem.

Sabe-se que o teor de compostos fenólicos pode ser afetado pelas condições de conservação ou de armazenamento de um produto, seja por meio de reações de hidrólise, oxidação, complexação, ou outras reações que possam levar à perdas ou conversões. O armazenamento das amostras em ausência de luz e a característica ácida do mel de melato de bracatinga são importantes fatores que contribuem para a minimização da degradação dos compostos fenólicos. Entretanto, o oxigênio presente dentro das embalagens pode favorecer a ocorrência de reações de oxidação, revelando a instabilidade dos compostos fenólicos. Por consequência, a redução da concentração de determinados fenólicos pode ser observada (GALANAKIS, 2018). Outro importante fator que pode estar associado à redução do teor de certos compostos fenólicos é a ocorrência de suas interações com substâncias presentes no mel, tais como proteínas. Essa hipótese é amparada por relatos da literatura, como pelo estudo de Brudzynski, Sjaarda e Maldonado-Alvarez (2013) onde foi verificada a formação de complexos proteínas-fenólicos em méis canadenses armazenados por seis meses em diferentes temperaturas (-20 °C; 4 °C; e temperatura ambiente (não informada)), sendo intensificada conforme ocorria o aumento da temperatura.

Com relação às amostras exploradas nesse estudo e armazenadas em temperatura controlada de 40 °C durante quatro meses, também foi observado um decréscimo na maioria dos compostos fenólicos investigados, com destaque para a apigenina, galangina, luteolina, ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido ferúlico e ácido gálico, em que foi observada a redução de até 50% em relação as concentrações iniciais. Ainda, decréscimos mais intensos (acima de 50%) foram observados para os compostos crisina, hesperidina, isoramnetina, kaempferol, naringenina, pinobankina, pinocembrin, quercetina, rutina/ composto desconhecido, coniferaldeído, siringaldeído e ácido cafeico, o que revela uma maior suscetibilidade desses compostos ao armazenamento em temperaturas altas. Esse mesmo comportamento, de decréscimo, foi observado quando comparadas as concentrações desses fenólicos nessa condição de estocagem (4 meses/ 40°C) com os teores encontrados após 24 meses de armazenamento em temperatura ambiente. Entretanto, conforme já constatado na condição prolongada de armazenamento e em temperatura ambiente, os ácidos benzoico, salicílico e siringico demonstraram considerável estabilidade frente aos 4 meses de armazenamento em temperatura de 40 °C, comportamento semelhante encontrado para os ácidos clorogênico e *p*-cumárico frente às mesmas condições.

Com base nos resultados destacados acima, foi possível constatar que o armazenamento do mel de melato de bracatinga em temperatura alta (40 °C), mesmo que por um período relativamente curto, afetou a concentração da maioria dos compostos fenólicos, e de forma mais

acentuada comparado ao armazenamento durante 24 meses em temperatura ambiente. Esses achados vêm de encontro com informações da literatura que indicam a acentuada influência da temperatura sobre a estabilidade dos compostos fenólicos. Além da oxidação, a epimerização dos compostos fenólicos é outro importante fator relevante e que pode levar a instabilidade e consequente redução da concentração desses analitos. Temperaturas altas, além da presença de minerais, estão entre os fatores que estimulam a ocorrência da epimerização (GALANAKIS, 2018). Considerando a presença de minerais nos méis avaliados e a estocagem dessas amostras em temperatura de 40 °C, é possível sugerir a epimerização como outro possível fator associado à redução acentuada na concentração da maioria dos compostos fenólicos investigados e observada nas amostras estocadas a 40 °C por quatro meses. Ainda, a ocorrência de interação entre compostos fenólicos e MRP foi sugerida em alimentos e modelos simulados (ORAL; DOGAN; SARIOGLU, 2014), podendo também estar relacionado ao decréscimo dos compostos fenólicos observado nessa condição de estocagem.

Em contrapartida, a estabilidade dos ácidos benzoico, salicílico, siríngico, clorogênico e *p*-cumárico em ambas as condições de estocagem estudadas não está bem esclarecida, sendo que uma das hipóteses é de que uma possível proteção desses compostos promovida por constituintes da matriz alimentar, como proteínas, e a formação desses analitos a partir da conversão de outros compostos fenólicos (BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007; BOBRICH et al., 2014) são fatores que podem estar associados a essa estabilidade.

Até o presente momento, não foram encontrados estudos na literatura referentes à influência das condições de estocagem sobre o perfil e concentração de compostos fenólicos em méis. Apenas alguns estudos foram encontrados e relacionam-se a compostos fenólicos voláteis específicos. O ácido benzoico é o composto fenólico volátil com maior número de relatos referente à influência de diferentes condições de armazenamento sobre a sua concentração em méis. Kaškonienė, Venskutonis e Čeksterytė (2008) observaram que para a maioria dos méis florais da Lituânia estocados a 4-6 °C por três meses houve uma tendência de decréscimo no teor desse fenólico. Por outro lado, em méis florais de caju e marmeleiro estocados a 35-40 °C, foi observado um aumento na concentração de ácido benzoico após três meses de armazenamento, seguido de um decréscimo após seis meses de estocagem (MOREIRA et al., 2010). Outro distinto comportamento foi relatado em méis florais cítricos e de urze estocados por 12 meses a 10, 20 e 40 °C. Nesses méis, o teor do ácido benzoico aumentou significativamente com o aumento da temperatura de armazenamento (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008, 2012). No estudo conduzido por Jerkovic e Marijanovic (2010a), foi

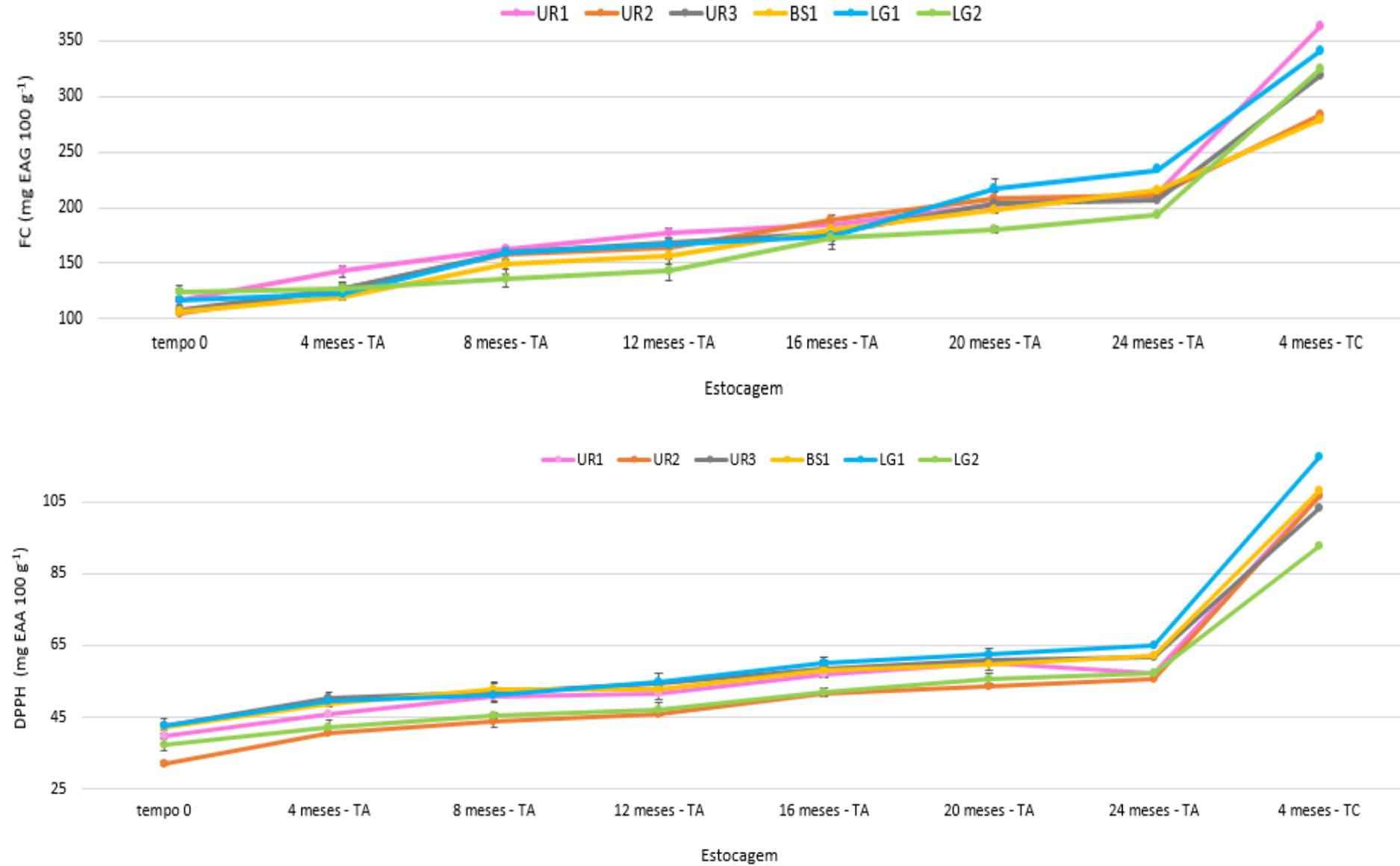
verificado que em méis de melato de *Quercus frainetto* de diferentes safras (2005 e 2009) estocados a 4 °C, o ácido benzoico manteve-se relativamente estável. O comportamento relatado nesse estudo para o ácido benzoico se assemelha ao observado no mel de melato de bracatinga, apresentado no presente trabalho. Entretanto, outros compostos fenólicos reportados no estudo de Jerkovic e Marijanovic (2010a) apresentaram comportamentos distintos aos encontrados no mel de melato de bracatinga nas diferentes condições estudadas. Por exemplo, o siringaldeído manteve-se relativamente estável ao longo da estocagem no mel de melato de *Quercus frainetto* enquanto no mel de melato de bracatinga a sua concentração decresceu. Os ácidos salicílico e *p*-cumárico foram sugeridos como substâncias sensíveis durante tempos prolongados de armazenamento do mel de melato de *Quercus frainetto*, enquanto no mel de melato de bracatinga estes compostos mantiveram-se estáveis nas condições de armazenamento estudadas.

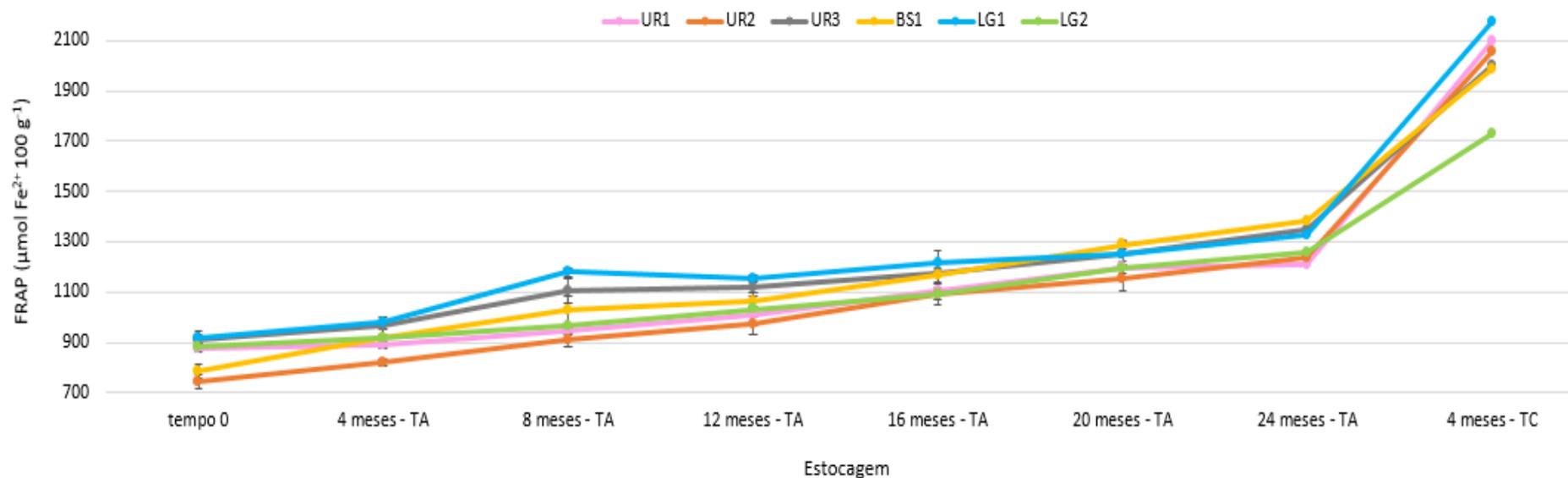
As diferentes origens botânicas e geográficas dos méis e os distintos tempos e temperaturas de armazenamento são alguns dos fatores que diferem entre os estudos e, por consequência, dificultam a comparação dos resultados. Porém, com base nos relatos da literatura e nos dados encontrados no presente estudo, é possível supor que o comportamento de cada composto fenólico ao longo do seu armazenamento esteja relacionado fortemente com as características químicas de cada mel e com as condições de armazenamento empregadas.

### 3.5 Capacidade antioxidante *in vitro*

Os ensaios de capacidade antioxidante *in vitro* são importantes ferramentas na avaliação das características relacionadas à bioatividade em méis. Na Figura 4.3 (e Anexo G), são apresentados os resultados encontrados para estes experimentos e nas condições de armazenamento avaliadas.

Figura 4.3 – Capacidade antioxidante *in vitro* de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benthham) durante o armazenamento





Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; 2,2-difenil-1-picrilhidrazila – DPPH, do inglês, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*; FC – capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu; capacidade antioxidante de redução do ferro – FRAP, do inglês, *ferric reducing antioxidant power*; EAA – equivalente a ácido ascórbico; EAG – equivalente a ácido gálico; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C; barras indicam o desvio padrão das médias;  $n = 3$ .

**Fonte:** Próprio autor (2019).

De acordo com a Figura 4.3, foi possível observar que a capacidade antioxidante dos méis de melato de bracatinga no tempo zero foi similar entre as amostras, independentemente do ensaio empregado, variando de  $104,30 \pm 5,19$  a  $124,73 \pm 6,21$  mg EAG  $100 \text{ g}^{-1}$  para o ensaio de FC, de  $744,26 \pm 3,75$  a  $915,12 \pm 29,00$   $\mu\text{mol Fe}^{2+}$   $100 \text{ g}^{-1}$  para o ensaio FRAP e de  $32,15 \pm 0,33$  a  $42,52 \pm 0,75$  mg EAA  $100 \text{ g}^{-1}$  para o ensaio DPPH. Esses resultados foram similares aos reportados para méis de melato de bracatinga e outros méis de melato como de *Quercus*, *Pinus*, *Abies* e da República Tcheca (BERGAMO et al., 2019a; CAN et al., 2015; FLORES; ESCUREDO; SEIJO, 2015; LACHMAN et al., 2010b; MEDA et al., 2005b).

Com relação às condições de armazenamento avaliadas, um gradual aumento nos valores de capacidade antioxidante das amostras armazenadas em temperatura ambiente foi observado, para os três ensaios utilizados. Considerando os resultados encontrados após 24 meses de armazenamento em temperatura ambiente, um aumento de até duas vezes foi verificado, quando comparados aos valores encontrados no tempo zero (Figura 4.3).

Essa mesma tendência foi observada para as amostras armazenadas em temperatura controlada de  $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$  durante quatro meses. Constatou-se que a temperatura alta de armazenamento afetou fortemente a capacidade antioxidante dos méis de melato de bracatinga, mesmo quando estes foram mantidos por um período relativamente curto de tempo, uma vez que um aumento de até três vezes em relação aos valores encontrados no tempo zero e de até duas vezes em comparação aos valores encontrados após 24 meses de armazenamento a temperatura ambiente foram verificados (Figura 4.3).

A capacidade antioxidante resulta da ação em conjunto de diversos constituintes de uma determinada matriz. Portanto, apesar de os compostos fenólicos serem amplamente correlacionados com a capacidade antioxidante em méis, outros compostos como minerais, proteínas, aminoácidos, peptídeos, ácidos orgânicos e MRP também podem contribuir quanto a esta importante propriedade (CHUA; LEE; CHAN, 2015; ESCUREDO et al., 2013; NAYIK et al., 2018; TURKMEN et al., 2006). O aumento na concentração de MRP tem sido fortemente relacionado com o aumento na capacidade antioxidante de méis durante o seu armazenamento ou aquecimento, uma vez que muitos destes compostos apresentam propriedades redutoras e de desativação de radicais (NAYIK; NANDA, 2016a, 2016c; PIMENTEL-GONZÁLEZ et al., 2016; TURKMEN et al., 2006; TURKUT et al., 2018). Portanto, pode-se sugerir que o aumento da capacidade antioxidante observada nas amostras de mel de melato de bracatinga nas diferentes condições de armazenamento estudadas esteja relacionado ao aumento do teor de MRP.

## 3.6 Análise de correlação

A existência de correlação entre os parâmetros analisados nesse estudo foi investigada e é apresentada na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Coeficientes de correlação obtidos entre diferentes parâmetros avaliados no mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) armazenado

| Parâmetro                            | FC      | FRAP    | DPPH    | <i>L</i> * | <i>a</i> * | <i>b</i> * |
|--------------------------------------|---------|---------|---------|------------|------------|------------|
| <b>FRAP</b>                          | 0,991*  | 1       |         |            |            |            |
| <b>DPPH</b>                          | 0,974*  | 0,994*  | 1       |            |            |            |
| <b><i>L</i>*</b>                     | -0,921* | -0,863* | -0,827* | 1          |            |            |
| <b><i>a</i>*</b>                     | -0,932* | -0,882* | -0,834* | 0,945*     | 1          |            |
| <b><i>b</i>*</b>                     | -0,841* | -0,763* | -0,708* | 0,965*     | 0,957*     | 1          |
| <b>MRP</b>                           | 0,974*  | 0,993*  | 0,988*  | -0,815*    | -0,853*    | -0,709*    |
| <b>K<sup>+</sup></b>                 | 0,609   | 0,673   | 0,731*  | -0,449     | -0,416     | -0,322     |
| <b>Na<sup>+</sup></b>                | 0,561   | 0,628   | 0,688   | -0,361     | -0,245     | -0,116     |
| <b>Ca<sup>2+</sup></b>               | -0,751* | -0,734* | -0,685  | 0,649      | 0,823*     | 0,678      |
| <b>Mg<sup>2+</sup></b>               | 0,520   | 0,564   | 0,635   | -0,426     | -0,322     | -0,267     |
| <b>Apigenina</b>                     | -0,910* | -0,941* | -0,936* | 0,700*     | 0,789*     | 0,601      |
| <b>Ácido benzoico</b>                | -0,707* | -0,621  | -0,585  | 0,897*     | 0,767*     | 0,868*     |
| <b>Ácido cafeico</b>                 | -0,957* | -0,926* | -0,887* | 0,906*     | 0,981*     | 0,894*     |
| <b>Ácido clorogênico</b>             | -0,773* | -0,773* | -0,734* | 0,604      | 0,810*     | 0,626      |
| <b>Crisina</b>                       | -0,915* | -0,858* | -0,811* | 0,961*     | 0,993*     | 0,979*     |
| <b>Coniferaldeído</b>                | -0,447  | -0,375  | -0,376  | 0,675      | 0,443      | 0,599      |
| <b>Ácido <i>p</i>-cumárico</b>       | -0,120  | -0,225  | -0,256  | -0,257     | -0,070     | -0,348     |
| <b>Ácido 3,4-dihidroxibenzoico</b>   | -0,944* | -0,948* | -0,926* | 0,794*     | 0,892*     | 0,740*     |
| <b>Ácido ferúlico</b>                | -0,983* | -0,964* | -0,952* | 0,940*     | 0,933*     | 0,867*     |
| <b>Galangina</b>                     | -0,969* | -0,975* | -0,953* | 0,835*     | 0,907*     | 0,770*     |
| <b>Ácido gálico</b>                  | -0,978* | -0,966* | -0,938* | 0,898*     | 0,929*     | 0,832*     |
| <b>Hesperidina</b>                   | -0,922* | -0,874* | -0,836* | 0,934*     | 0,972*     | 0,936*     |
| <b>Isoramnetina</b>                  | -0,951* | -0,919* | -0,880* | 0,901*     | 0,980*     | 0,893*     |
| <b>Kaempferol</b>                    | -0,975* | -0,941* | -0,912* | 0,955*     | 0,977*     | 0,916*     |
| <b>Luteolina</b>                     | -0,959* | -0,969* | -0,956* | 0,797*     | 0,884*     | 0,726*     |
| <b>Naringenina</b>                   | -0,942* | -0,895* | -0,854* | 0,956*     | 0,995*     | 0,958*     |
| <b>Pinobanksina</b>                  | -0,945* | -0,905* | -0,864* | 0,920*     | 0,986*     | 0,918*     |
| <b>Pinocembrina</b>                  | -0,980* | -0,970* | -0,941* | 0,894*     | 0,937*     | 0,840*     |
| <b>Quercetina</b>                    | -0,948* | -0,904* | -0,863* | 0,942*     | 0,989*     | 0,933*     |
| <b>Rutina/ composto desconhecido</b> | -0,985* | -0,959* | -0,930* | 0,941*     | 0,976*     | 0,903*     |
| <b>Ácido salicílico</b>              | -0,656  | -0,615  | -0,569  | 0,600      | 0,778*     | 0,676      |
| <b>Siringaldeído</b>                 | -0,566  | -0,479  | -0,456  | 0,816*     | 0,610      | 0,778*     |
| <b>Ácido siríngico</b>               | -0,360  | -0,414  | -0,458  | 0,142      | 0,280      | 0,101      |

Legenda: MRP – Produtos da reação de Maillard; 2,2-difenil-1-picrilhidrazila – DPPH, do inglês, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*; FC – capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu; capacidade antioxidante de redução do

ferro – FRAP, do inglês, *ferric reducing antioxidant power*;  $L^*$  – luminosidade;  $a^*$  – valores negativos indicam a intensidade do tom verde e valores positivos indicam a intensidade do tom vermelho;  $b^*$  – valores negativos indicam a intensidade do tom azul e valores positivos indicam a intensidade do tom amarelo; \*  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ .

**Fonte:** Próprio autor (2019).

Conforme apresentado na Tabela 4.3, a existência de correlação entre vários parâmetros foi confirmada.

Diversos estudos tem verificado a existência de correlação entre os ensaios de capacidade antioxidante em méis de melato como de *Pinus*, *Abies* e *Picea* (BERTONCELJ et al., 2011; LACHMAN et al., 2010b; TURKUT et al., 2018). Em concordância com esses relatos, uma correlação positiva e significativa também foi observada entre os ensaios de capacidade antioxidante nas amostras de mel de melato de bracatinga avaliados. Esses achados indicam que os compostos com propriedades redutoras e de desativação de radicais presentes nas amostras afetaram de forma similar os três ensaios de capacidade antioxidante empregados nesse estudo, mesmo estes apresentando condições experimentais e mecanismos de reações distintos (MA et al., 2011; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

Correlação positiva e significativa também foi observada entre os parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) dos méis submetidos ao armazenamento, sugerindo que os compostos de cor formados e/ou degradados nas diferentes condições de estocagem afetam de forma similar os três parâmetros de cor avaliados.

Ao se investigar a correlação entre a capacidade antioxidante e a cor dos méis de melato de bracatinga estudados, uma correlação significativa, mas negativa foi encontrada entre os ensaios de capacidade antioxidante e os parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ . Esses resultados indicam, portanto, que com o aumento da capacidade antioxidante desses méis, ocorre a redução dos valores de cor (escurecimento do mel). Esses achados estão em concordância com outros estudos, em que a existência de correlação entre estes parâmetros também foi confirmada, tanto em méis florais como em méis de melato, e relacionada à presença de compostos de cor com propriedades antioxidantes, tais como minerais, compostos fenólicos e MRP (BERTONCELJ et al., 2011; TEZCAN et al., 2011; TURKUT et al., 2018).

Considerando a influência dos compostos fenólicos na capacidade antioxidante e na cor de méis, a existência de correlação entre esses parâmetros foi investigada.

Diversos estudos relataram a existência de correlação significativa e positiva entre a capacidade antioxidante e compostos fenólicos em méis de melato como de *Quercus*, *Pinus* e da Espanha (CAN et al., 2015; ESCUREDO et al., 2013; FLORES; ESCUREDO; SEIJO, 2015; HALOUZKA; TARKOWSKI; ZELJKOVIĆ, 2016). Entretanto, no presente estudo, o

armazenamento das amostras resultou no decréscimo da concentração da maioria dos compostos fenólicos determinados e no aumento da capacidade antioxidante destas. Como consequência, uma correlação significativa, mas negativa foi observada entre a capacidade antioxidante e a maioria dos fenólicos, como crisina, galangina, kaempferol, ácido ferúlico e ácido gálico. Desta forma, assume-se que os compostos fenólicos investigados não são os principais responsáveis pela capacidade antioxidante dos méis de melato de bracatinga avaliados.

Considerando que os compostos fenólicos também podem contribuir na cor do méis (BRUDZYNSKI; KIM, 2011), a existência de correlação entre esses parâmetros também foi avaliada. Nas amostras de mel estocadas, um decréscimo na concentração da maioria dos compostos fenólicos e nos valores de cor foi verificado, resultando na ocorrência de correlação positiva e significativa entre os parâmetros de cor e a maioria dos compostos fenólicos quantificados, como hesperidina, naringenina, ácido gálico e galangina. Portanto, o escurecimento das amostras de mel armazenadas parece possuir relação com o decréscimo na concentração dos compostos fenólicos.

Outro importante grupo de compostos presentes nos méis são os minerais. Dessa forma, a existência de correlação entre os minerais e a capacidade antioxidante e a cor dos méis de melato de bracatinga armazenados também foi avaliada. A contribuição dos minerais na capacidade antioxidante e na cor de méis florais e de méis de melato já foi constatada em diversos estudos (ESCUREDO et al., 2013; GONZÁLEZ-MIRET et al., 2005; NAYIK; DAR; NANDA, 2015; SERAGLIO et al., 2017). Entretanto, no presente estudo, a existência de correlação significativa entre os minerais quantificados e a capacidade antioxidante e a cor dos méis estocados não foi verificada. Consequentemente, é possível assumir que os minerais determinados nesse estudo não contribuem significativamente para o aumento da capacidade antioxidante e para o decréscimo dos valores de cor das amostras de mel de melato de bracatinga aqui avaliadas.

Por outro lado, os MRP podem ser destacados neste estudo como fortes contribuintes da capacidade antioxidante e da cor dos méis estocados. Isso se deve à existência de correlação positiva e significativa entre os MRP e a capacidade antioxidante, e de correlação significativa e negativa entre os MRP e os parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , ou seja, o decréscimo nos valores da cor e aumento na capacidade antioxidante de méis estocados e/ou aquecidos tem sido fortemente correlacionado com o aumento na concentração de MRP, uma vez que a maioria destes compostos apresentam cor e também propriedades antioxidantes (BRUDZYNSKI; KIM,

2011; KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2016a; NAYIK; NANDA, 2016a, 2016c; PIMENTEL-GONZÁLEZ et al., 2016; TURKMEN et al., 2006; TURKUT et al., 2018).

### 3.7 Desejabilidade global

Considerando os resultados encontrados para os méis armazenados na temperatura controlada de 40 °C, foi possível confirmar que esta condição de armazenamento afetou fortemente os compostos bioativos e de cor do mel de melato de bracatinga e, portanto, esta condição de estocagem deve ser evitada. Nesse sentido, especial atenção deve ser dada ao armazenamento desse tipo de mel em locais de clima tropical ou mediterrâneo, uma vez que temperaturas de 40 °C podem ser alcançadas facilmente (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012; MOREIRA et al., 2007, 2010).

Assim, o tempo ótimo de estocagem de cada mel de melato de bracatinga analisado foi estimado pela função da desejabilidade global (critérios utilizados estão apresentados no Anexo F) considerando apenas a condição de estocagem a temperatura ambiente. Os valores de desejabilidade global e o tempo ótimo de estocagem estimado para cada amostra de mel são apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Valores de desejabilidade global de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) armazenados a temperatura ambiente

| Desejabilidade global    | UR1     | UR2     | UR3      | BS1     | LG1     | LG2     |
|--------------------------|---------|---------|----------|---------|---------|---------|
| Tempo ótimo de estocagem | 8 meses | 4 meses | 12 meses | 4 meses | 8 meses | 8 meses |
| Valor de <i>D</i>        | 0,61    | 0,60    | 0,49     | 0,60    | 0,69    | 0,60    |

Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; valor de *D* – valor da desejabilidade global.

**Fonte:** Próprio autor (2019).

Conforme apresentado na Tabela 4.4, o tempo ótimo de estocagem dos méis avaliados variou de 4 a 12 meses, indicando que pequenas diferenças na composição química dos méis têm efeito considerável sobre o tempo ótimo de estocagem. Portanto, pode-se sugerir que o mel de melato de bracatinga mantém satisfatoriamente as suas características bioativas e de cor por até 12 meses quando armazenados à temperatura ambiente. Ainda, quando tempos de estocagem mais longos são requeridos, as condições de armazenamento do mel de melato de bracatinga devem contemplar temperaturas inferiores à temperatura ambiente para que as amostras mantenham suas características minimamente alteradas.

#### 4 Conclusão

Neste estudo, o efeito das condições de armazenamento frente aos compostos bioativos e de cor do mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) foi investigado.

Amostras de mel de melato de bracatinga armazenados à temperatura ambiente por tempo prolongado (24 meses), resultou no decréscimo do teor da maioria dos compostos fenólicos, no escurecimento do mel, no aumento do teor de MRP e no aumento das capacidades de redução e desativação deste mel. Foi verificado também que estas alterações foram intensificadas na condição de estocagem de 40 °C por quatro meses. Apenas os minerais foram, de maneira geral, pouco afetados pelas condições de estocagem aplicadas. Ainda, os MRP podem ser sugeridos como potenciais indicadores de aquecimento prolongado e estocagem prolongada do mel de melato de bracatinga.

Portanto, pode-se sugerir que o armazenamento do mel de melato de bracatinga sob condições de temperatura alta deve ser evitado, e que a estocagem deste mel a temperatura ambiente por até 12 meses mantém satisfatoriamente as suas características bioativas e de cor. Ainda é possível recomendar, com base nos resultados alcançados durante esse estudo amplo, que o armazenamento deste mel em temperaturas abaixo de  $23,0 \pm 2,3$  °C seja a mais indicada, a fim de minimizar alterações observadas neste estudo, e principalmente, quando se pretende conservar este produto por um período superior a 12 meses.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Nesse estudo, a influência da digestão *in vitro* e do armazenamento sobre constituintes e capacidade antioxidante do mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) procedente do estado de Santa Catarina foi investigada.

Com base nos resultados encontrados, foi possível assumir que os compostos fenólicos e minerais desse mel são bioacessíveis e potencialmente biodisponíveis. É possível propor ainda que sua capacidade antioxidante é relativamente pouco afetada pela digestão *in vitro* e que outros constituintes também contribuem para a capacidade antioxidante deste mel.

Além disso, foi verificado que o armazenamento do mel de melato de bracatinga em temperatura ambiente ( $23,0 \pm 2,3$  °C) por tempo prolongado (24 meses) resultou em alterações de várias características desse mel, sendo tais modificações intensificadas na condição de estocagem a 40 °C por quatro meses. Dentre as características avaliadas, a acidez livre merece destaque, uma vez que foram verificados resultados em desacordo com as legislações vigentes em todas as condições estudadas, mas que por outro lado este é um comportamento comum e observado ao longo de várias safras, revelando ser um importante ponto de discussão entre os órgãos oficiais, uma vez que a qualidade desse mel não é inviabilizada pelo valor um pouco superior ao previsto em legislação.

Ainda, o ácido glutárico e atividade diastásica puderam ser sugeridos como indicadores de aquecimento prolongado do mel de melato de bracatinga, enquanto que o ácido glutâmico, 5-hidroximetilfurfural e MRP puderam ser sugeridos como potenciais indicadores de aquecimento prolongado e de estocagem prolongada desse mel.

Adicionalmente, foi possível indicar que o armazenamento do mel de melato de bracatinga em condições de temperaturas altas deve ser evitado e que, relevando os resultados referentes à acidez livre, a estocagem deste mel a temperatura ambiente por, no máximo, 16 meses, mantém satisfatoriamente as suas características de qualidade físico-química. Porém, é sugerido que as suas características bioativas e de cor sejam mantidas satisfatoriamente por até 12 meses. Sendo assim, parece que a estocagem deste mel a temperatura ambiente ( $23,0 \pm 2,3$  °C) por até 12 meses permite que sejam mantidas satisfatoriamente as suas características bioativas, de cor e de qualidade físico-química. Entretanto, quando pretende-se conservar esse produto por períodos superiores a 12 meses, o armazenamento deste mel em temperaturas abaixo de  $23,0 \pm 2,3$  °C parece ser indicado.

Com base nesses resultados, estimula-se futuros estudos *in vivo* buscando avaliar possíveis efeitos benéficos a saúde relacionada ao consumo do mel de melato de bracatinga.

Ainda, considerando a influência das condições de estocagem sobre a composição do mel de melato de bracatinga, torna-se importante avaliar ainda os compostos voláteis visando identificar possíveis marcadores químicos de degradação, bem como outras condições de armazenamento, com vistas a de avaliar outros parâmetros que podem afetar a qualidade desse mel, como diferentes tempos, temperaturas, embalagens, exposição ou não à luz. Além disso, um aprofundamento no estudo da acidez do mel de melato de bracatinga é sugerido a fim de fundamentar futura proposta de alteração das regulamentações relacionadas à acidez livre para esse mel e a fim de garantir a sua adequação às exigências legais vigentes.

É importante destacar ainda que este estudo contribuiu com dados inéditos relacionados ao efeito da digestão *in vitro* sobre minerais, compostos fenólicos e capacidade antioxidante do mel de melato de bracatinga, bem como sobre o efeito de diferentes condições de estocagem sobre a composição desse mel. Ainda, até o momento, esse foi o primeiro estudo a reportar informações relacionadas a bioacessibilidade *in vitro* de compostos fenólicos em méis e referente ao efeito de diferentes condições de estocagem sobre os compostos fenólicos, minerais e ácidos orgânicos alifáticos em méis. Esse estudo vem de encontro com os trabalhos já realizados e em andamento coordenados pelo Grupo de Pesquisa em Antioxidantes Naturais da UFSC, o qual é pioneiro na investigação da composição e propriedades bioativas do mel de melato de bracatinga.

## REFERÊNCIAS

- AB WAHAB, S. Z. et al. Long-term effects of honey on cardiovascular parameters and anthropometric measurements of postmenopausal women. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 41, p. 154–160, 2018.
- AL-GHAMDI, A. et al. Comparison of physicochemical properties and effects of heating regimes on stored *Apis mellifera* and *Apis florea* honey. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 4, p. 845–848, 2019.
- AL-WAILI, N. S. Effects of daily consumption of honey solution on hematological indices and blood levels of minerals and enzymes in normal individuals. **Journal of Medicinal Food**, v. 6, n. 2, p. 135–140, 2003.
- AL, M. L. et al. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 863–867, 2009.
- ALMINGER, M. et al. *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 413–436, 2014.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M. et al. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 3, n. 1, p. 15–23, 2010.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M. et al. Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1508–1516, 2012.
- ANKLAM, E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. **Food Chemistry**, v. 63, n. 4, p. 549–562, 1998.
- AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. 18 ed. Gaithersburg (Estados Unidos): AOAC International, 2005.
- ARGYRI, K.; KOMAITIS, M.; KAPSOKEFALOU, M. Iron decreases the antioxidant capacity of red wine under conditions of *in vitro* digestion. **Food Chemistry**, v. 96, n. 2, p. 281–289, 2006.

ARMITAGE, P.; BERRY, G.; MATTHEWS, J. N. S. **Statistical Methods in Medical Research**. 4 ed. Oxford (Reino Unido): Blackwell Science Ltd, 2002.

ASTWOOD, K.; LEE, B.; MANLEY-HARRIS, M. Oligosaccharides in New Zealand honeydew honey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 12, p. 4958–4962, 1998.

ATANASSOVA, J.; LAZAROVA, M.; YURUKOVA, L. Significant parameters of Bulgarian honeydew honey. **Journal of Central European Agriculture**, v. 17, n. 3, p. 640–651, 2016.

AZEVEDO, M. S. et al. Screening and determination of aliphatic organic acids in commercial Brazilian sugarcane spirits employing a new method involving capillary electrophoresis and a semi-permanent adsorbed polymer coating. **Food Research International**, v. 60, p. 123–130, 2014.

AZEVEDO, M. S. et al. Free amino acid determination by GC-MS combined with a chemometric approach for geographical classification of bracinga honeydew honey (*Mimosa scabrella* Bentham). **Food Control**, v. 78, p. 383–392, 2017a.

AZEVEDO, M. S. et al. Proteome comparison for discrimination between honeydew and floral honeys from botanical species *Mimosa scabrella* Bentham by principal component analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 13, p. 4515–4519, 2017b.

BARTH, O. M. Análise polínica de mel: avaliação de dados e seu significado. **Mensagem Doce Online**, n. 81, 2005.

BATH, P. K.; SINGH, N. Chemical changes in *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey during storage. **Journal of Food Quality**, v. 23, n. 4, p. 443–451, 2000.

BENDER, C. M.; BARBOSA, L.; DE SOUZA, J. P. **Estudo da competitividade da cadeia produtiva apícola de Santa Catarina: ênfase na análise da dinâmica competitiva do segmento produtor e processador da cadeia**. Disponível em: <[http://www.apec.unesc.net/IEEC/sessoes\\_tematicas/Rural\\_agricola/artigo3a.PDF](http://www.apec.unesc.net/IEEC/sessoes_tematicas/Rural_agricola/artigo3a.PDF)>. Acesso em: 12 ago. 2019.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–6, 1996.

BERGAMO, G. et al. Mineral profile as a potential parameter for verifying the authenticity of bracatinga honeydew honeys. **LWT - Food Science and Technology**, v. 97, p. 390–395, 2018.

BERGAMO, G. et al. Physicochemical characteristics of bracatinga honeydew honey and blossom honey produced in the state of Santa Catarina: An approach to honey differentiation. **Food Research International**, v. 116, p. 745–754, 2019a.

BERGAMO, G. et al. Differentiation of honeydew honeys and blossom honeys: a new model based on colour parameters. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 5, p. 2771–2777, 2019b.

BERMÚDEZ-SOTO, M. J.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GARCÍA-CONESA, M. T. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 865–874, 2007.

BERTONCELJ, J. et al. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 822–828, 2007.

BERTONCELJ, J. et al. Characterisation of Slovenian honeys on the basis of sensory and physicochemical analysis with a chemometric approach. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 8, p. 1661–1671, 2011.

BILUCA, F. C. et al. Phenolic compounds, antioxidant capacity and bioaccessibility of minerals of stingless bee honey (*Meliponinae*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, p. 89–97, 2017.

BOBRICH, A. et al. Phytochemicals in Japanese plums: impact of maturity and bioaccessibility. **Food Research International**, v. 65, p. 20–26, 2014.

BOGDANOV, S. et al. Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. **Bee world**, v. 80, n. 2, p. 61–69, 1999.

BOGDANOV, S. et al. Determination of residues in honey after treatments with formic and oxalic acid under field conditions. **Apidologie**, v. 33, n. 4, p. 399–409, 2002.

BOGDANOV, S. et al. Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. **Journal of Apicultural Research**, v. 46, n. 4, p. 269–275, 2007.

BOGDANOV, S.; RUOFF, K.; PERSANO-ODDO, L. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. **Apidologie**, v. 35, p. S4–S17, 2004.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Mapa. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000**. Aprova Regulamento técnico de Identidade e Qualidade do Mel. p. 1–4, 2000.

BRASIL. Inmetro. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. Documento de caráter orientativo. DOQ-CGCRE-008. Revisão 04. 2011.

BRODKORB, A. et al. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature Protocols**, v. 14, n. 4, p. 991–1014, 2019.

BRUDZYNSKI, K.; KIM, L. Storage-induced chemical changes in active components of honey de-regulate its antibacterial activity. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1155–1163, 2011.

BRUDZYNSKI, K.; SJAARDA, C.; MALDONADO-ALVAREZ, L. A new look on protein-polyphenol complexation during honey storage: is this a random or organized event with the help of dirigent-like proteins? **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. e72897, 2013.

BRUGNEROTTO, P. et al. A capillary electrophoresis method to determine aliphatic organic acids in bracatinga honeydew honey and floral honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 82, p. 103243, 2019.

BUENO-COSTA, F. M. et al. Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 333–340, 2016.

CAMINA, J. M.; PELLERANO, R. G.; MARCHEVSKY, E. J. Geographical and botanical classification of honeys and apicultural products by chemometric methods. A review. **Current Analytical Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 408–425, 2012.

CAMPOS, G. et al. Classificação do mel em floral ou mel de melato. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 1–5, 2003.

CAN, Z. et al. An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. **Food Chemistry**, v. 180, p. 133–141, 2015.

CAPUANO, E.; FOGLIANO, V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): a review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 793–810, 2011.

CARBONELL-CAPELLA, J. M. et al. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 2, p. 155–171, 2014.

CARPANEZZI, A. A. et al. **Manual técnico da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth).** **Documentos**, 20. Curitiba (Paraná): Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Florestas, 1988.

CARRATÙ, B. et al. Free amino acids, oxalate and sulphate for honey characterization. **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**, v. 3, n. 2, p. 81–88, 2011.

CARVALHO, P. E. R. **Bracatinga. Circular Técnica**, 59. Colombo (Paraná): Embrapa Florestas, 2002.

CASTRO-VÁZQUEZ, L. et al. Influence of storage conditions on chemical composition and sensory properties of Citrus honey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 6, p. 1999–2006, 2008.

CASTRO-VÁZQUEZ, L. et al. Changes in the volatile fractions and sensory properties of heather honey during storage under different temperatures. **European Food Research and Technology**, v. 235, n. 2, p. 185–193, 2012.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. São Paulo (São Paulo): Agrônoma Ceres, 2005.

CAVIA, M. M. et al. Evolution of acidity of honeys from continental climates: influence of induced granulation. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1728–1733, 2007.

CERIELLO, A.; TESTA, R.; GENOVESE, S. Clinical implications of oxidative stress and potential role of natural antioxidants in diabetic vascular complications. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 26, n. 4, p. 285–292, 2016.

CHAMORRO, F. J.; NATES-PARRA, G.; KONDO, T. Mielato de *Stigmacoccus asper* (Hemiptera: Stigmacoccidae): recurso melífero de bosques de roble en Colombia. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 39, n. 1, p. 61–70, 2013.

CHANDRASEKARA, A.; SHAHIDI, F. Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated *in vitro* digestion and microbial fermentation. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 709, 2012.

CHAUDHARY, A. et al. Wound healing efficacy of Jamun honey in diabetic mice model through reepithelialization, collagen deposition and angiogenesis. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, *in press*, 2019.

CHEN, G.-L. et al. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of selected fruit seeds subjected to an *in vitro* digestion. **Journal of Functional Foods**, v. 20, p. 317–331, 2016.

CHERCHI, A. et al. Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic determination of organic acids in honey. **Journal of Chromatography A**, v. 669, n. 1–2, p. 59–64, 1994.

CHEYNIER, V. et al. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 72, p. 1–20, 2013.

CHIRIFE, J.; ZAMORA, M. C.; MOTTO, A. The correlation between water activity and % moisture in honey: fundamental aspects and application to Argentine honeys. **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 3, p. 287–292, 2006.

CHUA, L. S. et al. Effect of thermal treatment on the biochemical composition of tropical honey samples. **International Food Research Journal**, v. 21, n. 2, p. 773–778, 2014.

CHUA, L. S.; ADNAN, N. A. Biochemical and nutritional components of selected honey samples. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, v. 13, n. 2, p. 169–179, 2014.

CHUA, L. S.; LEE, J. Y.; CHAN, G. F. Characterization of the proteins in honey. **Analytical**

**Letters**, v. 48, n. 4, p. 697–709, 2015.

CHUDZINSKA, M.; BARALKIEWICZ, D. Estimation of honey authenticity by multielements characteristics using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) combined with chemometrics. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 1, p. 284–290, 2010.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex Standard for Honey, CODEX STAN 12-1981**. Roma (Itália): Codex Alimentarius, 2001.

CONTI, M. et al. Characterization of Italian honeys (Marche Region) on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. **Chemistry Central Journal**, v. 1, n. 1, p. 14, 2007.

CORREA-BETANZO, J. et al. Stability and biological activity of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) polyphenols during simulated *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 165, p. 522–531, 2014.

COSTA-PINTO, R.; GANTNER, D. Macronutrients, minerals, vitamins and energy. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, *in press*, 2020.

COTTE, J. F. et al. Chromatographic analysis of sugars applied to the characterisation of monofloral honey. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 380, n. 4, p. 698–705, 2004.

CZIPIA, N.; ANDRÁSI, D.; KOVÁCS, B. Determination of essential and toxic elements in Hungarian honeys. **Food Chemistry**, v. 175, p. 536–542, 2015.

DA COSTA LEITE, J. . et al. Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin. **Food Chemistry**, v. 70, n. 1, p. 93–98, 2000.

DAGLIA, M. et al. Influence of *in vitro* simulated gastroduodenal digestion on methylglyoxal concentration of manuka (*Lectospermum scoparium*) honey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 9, p. 2140–2145, 2013.

DAHER, S.; GÜLAÇAR, F. O. Analysis of phenolic and other aromatic compounds in honeys by solid-phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 5775–5780, 2008.

DAHMER, N. et al. “Bracatinga” (*Mimosa scabrella* Bentham), a multipurpose tree growing in southern Brazil: chromosome number and genetic variation. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 60, n. 1, p. 377–383, 2013.

DANON, B.; MARCOTULLIO, G.; JONG, W. DE. Mechanistic and kinetic aspects of pentose dehydration towards furfural in aqueous media employing homogeneous catalysis. **Green Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 1–16, 2013.

DAS, A. et al. Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of *Sesamum indicum* honey containing phenolic compounds and lignans. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, p. 244–250, 2015.

DE LA FUENTE, E. et al. Carbohydrate composition of Spanish unifloral honeys. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1483–1489, 2011.

DE SOUZA, R. L. et al. 5-Hydroxymethylfurfural (5-HMF) production from hexoses: limits of heterogeneous catalysis in hydrothermal conditions and potential of concentrated aqueous organic acids as reactive solvent system. **Challenges**, v. 3, n. 2, p. 212–232, 2012.

DEL CAMPO, G. et al. Quantitative determination of carboxylic acids, amino acids, carbohydrates, ethanol and hydroxymethylfurfural in honey by <sup>1</sup>H NMR. **Food Chemistry**, v. 196, p. 1031–1039, 2016.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, n. 4, p. 214–219, 1980.

DIEZ, M. J.; ANDRES, C.; TERRAB, A. Physicochemical parameters and pollen analysis of Moroccan honeydew honeys. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p. 167–176, 2004.

DOBRE, I. et al. Rheological behavior of different honey types from Romania. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 126–132, 2012.

DURBIN, J.; WATSON, G. S. Testing for serial correlation in least squares regression I. **Biometrika**, v. 37, p. 409–428, 1950.

EGGER, L. et al. The harmonized INFOGEST *in vitro* digestion method: from knowledge to action. **Food Research International**, v. 88, p. 217–225, 2016.

EREJUWA, O. O.; SULAIMAN, S. A.; AB WAHAB, M. S. Honey: a novel antioxidant. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 4400–4423, 2012.

ESCRICHE, I. et al. Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 142, p. 135–143, 2014.

ESCUREDO, O. et al. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2–3, p. 851–856, 2013.

ESCUREDO, O. et al. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. **Food Chemistry**, v. 149, p. 84–90, 2014.

ESCUREDO, O.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; SEIJO, M. C. Differentiation of blossom honey and honeydew honey from northwest Spain. **Agriculture**, v. 2, n. 4, p. 25–37, 2012.

ESCUREDO, O.; SEIJO, M. C.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M. Descriptive analysis of Rubus honey from the north-west of Spain. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 11, p. 2329–2336, 2011.

ETCHEVERRY, P.; GRUSAK, M. A.; FLEIGE, L. E. Application of *in vitro* bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, iron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B6, B12, D, and E. **Frontiers in Physiology**, v. 3, n. 317, p. 1–22, 2012.

EURACHEM. Eurachem guide: the fitness for purpose of analytical methods – a laboratory guide to method validation and related topics. Torino (Itália): Eurachem, 2014.

EUROPEAN COMMISSION. European Commission Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. **Official Journal of the European Communities**, p. 10–47, 2002.

EVERETTE, J. D. et al. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin–Ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 14, p. 8139–8144, 2010.

FALLICO, B.; ARENA, E.; ZAPPALA, M. Degradation of 5-hydroxymethylfurfural in honey. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, p. C625–C631, 2008.

- FASASI, K. A. Physicochemical attributes of nigerian natural honey from honeybees (*Apis mellifera adansonii*) (Hymenoptera: Apidae) and its shelf life in storage at room temperature. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 15, n. 21, p. 1027–1033, 2012.
- FECHNER, D. C. et al. Multivariate classification of honeys from Corrientes (Argentina) according to geographical origin based on physicochemical properties. **Food Bioscience**, v. 15, p. 49–54, 2016.
- FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed., Porto Alegre (Rio Grande do Sul): Artmed, 2010.
- FERMO, P. et al. Ionic profile of honey as a potential indicator of botanical origin and global environmental pollution. **Environmental Pollution**, v. 178, p. 173–181, 2013.
- FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 239–247, 2000.
- FINOLA, M. S.; LASAGNO, M. C.; MARIOLI, J. M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1649–1653, 2007.
- FLORES, M. S. R.; ESCUREDO, O.; SEIJO, M. C. Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. **Food Chemistry**, v. 166, p. 101–106, 2015.
- FRIEDMAN, M.; JÜRGENS, H. S. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2101–2110, 2000.
- GALANAKIS, C. **Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications**. 1 ed. Cambridge (Reino Unido): Woodhead Publishing, 2018.
- GIMÉNEZ, A.; ARES, F.; ARES, G. Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 311–325, 2012.
- GIROLAMO, F. DI; D'AMATO, A.; RIGHETTI, P. G. Assessment of the floral origin of honey via proteomic tools. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 12, p. 3688–3693, 2012.
- GOLOB, T. et al. Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total

reflection X-ray fluorescence spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 91, n. 4, p. 593–600, 2005.

GONZÁLEZ-MIRET, M. L. et al. Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 7, p. 2574–2580, 2005.

GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M. et al. HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). **Food Chemistry**, v. 95, n. 1, p. 148–156, 2006.

GRABOWSKI, N. T.; KLEIN, G. Microbiology and food-borne pathogens in honey. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 9, p. 1852-1862, 2017.

HALOUZKA, R.; TARKOWSKI, P.; ZELJKOVIĆ, S. Ć. Characterisation of phenolics and other quality parameters of different types of honey. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 34, n. 3, p. 244–253, 2016.

HAROUN, M. I. et al. **Organic acid profiles and contents of Turkish honeydew and floral honeys**. In: International Conference on Environment, Agriculture and Food Sciences (ICEAFS'2012). Phuket, Thailand, 2012a.

HAROUN, M. I. et al. Phenolic acids and flavonoids profiles of some Turkish honeydew and floral honeys. **Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 39–45, 2012b.

HELAL, A. et al. Bioaccessibility of polyphenols and cinnamaldehyde in cinnamon beverages subjected to *in vitro* gastro-pancreatic digestion. **Journal of Functional Foods**, v. 7, n. 1, p. 506–516, 2014.

HISIL, Y.; BAGDATLIOGLU, N. Changes in sugars of clear honeys kept in glass jars during storage. **GIDA**, v. 19, n. 2, p. 103–105, 1994.

HU, J. et al. Acid hydrolytic method for determination of ginkgo biloba total flavonoids in rat plasma by HPLC for pharmacokinetic studies. **Tsinghua Science and Technology**, v. 15, n. 4, p. 452–459, 2010.

IACOPETTI, I. et al. Hyaluronic acid, Manuka honey and Acemannan gel: wound-specific applications for skin lesions. **Research in Veterinary Science**, v. 129, p. 82–89, 2020.

IGLESIAS, M. T. et al. Usefulness of amino acid composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 84–89, 2004.

IGLESIAS, M. T. et al. Changes in the free amino acid contents of honeys during storage at ambient temperature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 24, p. 9099–9104, 2006.

JANISZEWSKA, K.; ANIOŁOWSKA, M.; NOWAKOWSKI, P. Free amino acids content of honeys from Poland. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 62, n. 2, p. 85–89, 2012.

JERKOVIĆ, I. et al. Molecular diversity of volatile compounds in rare willow (*Salix* spp.) honeydew honey: identification of chemical biomarkers. **Molecular Diversity**, v. 14, n. 2, p. 237–248, 2010.

JERKOVIC, I.; MARIJANOVIC, Z. Oak (*Quercus frainetto* ten.) honeydew honey-approach to screening of volatile organic composition and antioxidant capacity (DPPH and FRAP assay). **Molecules**, v. 15, n. 5, p. 3744–3756, 2010.

KAMILOGLU, S. et al. Influence of different processing and storage conditions on *in vitro* bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades. **Food Chemistry**, v. 186, p. 74–82, 2015.

KARABAGIAS, I. K. et al. Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 146, p. 548–557, 2014a.

KARABAGIAS, I. K. et al. Floral authentication of Greek unifloral honeys based on the combination of phenolic compounds, physicochemical parameters and chemometrics. **Food Research International**, v. 62, n. 10, p. 753–760, 2014b.

KARABAGIAS, I. K. et al. Phenolic profile, colour intensity, and radical scavenging activity of Greek unifloral honeys. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 8, p. 1201–1210, 2016.

KARABAGIAS, I. K. et al. Characterization and geographical discrimination of commercial

*Citrus* spp. honeys produced in different Mediterranean countries based on minerals, volatile compounds and physicochemical parameters, using chemometrics. **Food Chemistry**, v. 217, p. 445–455, 2017.

KARABAGIAS, I. K. et al. Geographical discrimination of pine and fir honeys using multivariate analyses of major and minor honey components identified by <sup>1</sup>H NMR and HPLC along with physicochemical data. **European Food Research and Technology**, v. 244, n. 7, p. 1249–1259, 2018.

KARABAGIAS, I. K. et al. Palynological, physico-chemical and bioactivity parameters determination, of a less common Greek honeydew honey: “dryomelo”. **Food Control**, v. 109, p. 106940, 2020.

KAROUI, R. et al. The use of front face fluorescence spectroscopy to classify the botanical origin of honey samples produced in Switzerland. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 314–323, 2007.

KAŠKONIENĖ, V.; VENSKUTONIS, P. R.; ČEKŠTERYTĖ, V. Composition of volatile compounds of honey of various floral origin and beebread collected in Lithuania. **Food Chemistry**, v. 111, n. 4, p. 988–997, 2008.

KASSIM, M. et al. Gelam honey inhibits lipopolysaccharide-induced endotoxemia in rats through the induction of heme oxygenase-1 and the inhibition of cytokines, nitric oxide, and high-mobility group protein B1. **Fitoterapia**, v. 83, n. 6, p. 1054–1059, 2012.

KĘDZIERSKA-MATYSEK, M. et al. Characterisation of viscosity, colour, 5-hydroxymethylfurfural content and diastase activity in raw rape honey (*Brassica napus*) at different temperatures. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 4, p. 2092–2098, 2016a.

KĘDZIERSKA-MATYSEK, M. et al. Effect of freezing and room temperatures storage for 18 months on quality of raw rapeseed honey (*Brassica napus*). **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 8, p. 3349–3355, 2016b.

KHALIL, M. I.; SULAIMAN, S. A.; GAN, S. H. High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8–9, p. 2388–2392, 2010.

- KIM, D.-O. et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3713–3717, 2002.
- KIVRAK, İ. Free amino acid profiles of 17 Turkish unifloral honeys. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 38, n. 8, p. 855–862, 2015.
- KOSIŃSKA-CAGNAZZO, A. et al. Identification of bioaccessible and uptaken phenolic compounds from strawberry fruits in *in vitro* digestion/Caco-2 absorption model. **Food Chemistry**, v. 170, p. 288–294, 2015.
- KOWALSKI, S. et al. 5-Hydroxymethyl-2-Furfural (HMF) – heat-induced formation, occurrence in food and biotransformation – a review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 63, n. 4, p. 207–225, 2013.
- KOWALSKI, S. et al. Free amino acids profile of Polish and Slovak honeys based on LC–MS/MS method without the prior derivatisation. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 11, p. 3716–3723, 2017.
- LACHMAN, J. et al. Analysis of minority honey components: possible use for the evaluation of honey quality. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 973–979, 2007.
- LACHMAN, J. et al. Contents of major phenolic and flavonoid antioxidants in selected Czech honey. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 28, n. 5, p. 412–426, 2010a.
- LACHMAN, J. et al. Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 1, p. 52–58, 2010b.
- LEBLANC, B. W. et al. Formation of hydroxymethylfurfural in domestic high-fructose corn syrup and its toxicity to the honey bee (*Apis mellifera*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7369–7376, 2009.
- LEVENE, H. **Robust test for equality of variances**. Palo Alto (California): Stanford University Press, 1960.
- LIN, H.-Y.; CHANG, T.-C.; CHANG, S.-T. A review of antioxidant and pharmacological properties of phenolic compounds in *Acacia confusa*. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 8, n. 4, p. 443–450, 2018.

- LIU, J.-R. et al. Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1–4, p. 938–943, 2013.
- LUKASIEWICZ, M.; KOWALSKI, S.; MAKAREWICZ, M. Antimicrobial and antioxidant activity of selected Polish herb honeys. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 547–553, 2015.
- MA, X. et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 129, n. 1, p. 102–107, 2011.
- MADEJCZYK, M.; BARALKIEWICZ, D. Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. **Analytica Chimica Acta**, v. 617, n. 1–2, p. 11–17, 2008.
- MAGALHÃES, L. M. et al. Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, v. 613, n. 1, p. 1–19, 2008.
- MAJTAN, J. et al. Fir honeydew honey flavonoids inhibit TNF- $\alpha$ -induced MMP-9 expression in human keratinocytes: a new action of honey in wound healing. **Archives of Dermatological Research**, v. 305, n. 7, p. 619–627, 2013.
- MAN, C. M. D. Shelf-life testing. In: **Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food**. Cambridge (Reino Unido): Elsevier, 2004.
- MANZANARES, A. B. et al. Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 664–672, 2011.
- MARENDA, T. A. et al. Desenvolvimento de um sistema para classificação do mel em floral e melato por parâmetros físico químicos combinados com redes neurais artificiais. **Evidência**, v. 11, n. 1, p. 61–74, 2011.
- MARIANO-DA-SILVA, F. M. DE S.; MARIANO-DA-SILVA, S.; COSTA-NETTO, A. P. DA. Aplicação do índice de Kirkwood para diferenciar mel floral e de melato oriundos do município de Bom Retiro (SC). **Revista Agrarian**, v. 4, n. 13, p. 244–250, 2011.
- MARINOVA, M. et al. Content of some heavy metals in Bulgarian honeydew honey. **Trakia**

**Journal of Science**, v. 13, p. 296–302, 2015.

MARTINS, M.; ORTH, A. I.; NARDI, C. **Interações entre *Apis mellifera* e as cochonilhas *Tachardiella* sp. (homoptera: lacifferidae) em bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham - Mimosaceae) em Bom Retiro, planalto catarinense.** In: VI Congresso de Ecologia do Brasil. Fortaleza, Ceará, 9 a 14 de novembro de 2003. Anais... Fortaleza, CE, 2003.

MATEO, R.; BOSCH-REIG, F. Sugar profiles of Spanish unifloral honeys. **Food Chemistry**, v. 60, n. 1, p. 33–41, 1997.

MATEO, R.; BOSCH-REIG, F. Classification of Spanish unifloral honeys by discriminant analysis of electrical conductivity, color, water content, sugars, and pH. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 46, n. 2, p. 393–400, 1998.

MATO, I. et al. Significance of nonaromatic organic acids in honey. **Journal of Food Protection**, v. 66, n. 12, p. 2371–2376, 2003.

MATO, I. et al. Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1541–1550, 2006.

MAYER, A. et al. Treatment of non-healing leg ulcers with honeydew honey. **Journal of Tissue Viability**, v. 23, n. 3, p. 94–97, 2014.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. **Bracatinga, Mimosa scrabella Bentham: cultivo, manejo e usos da espécie.** Florianópolis (Santa Catarina): Epagri, 2014.

MCLOONE, P.; WARNOCK, M.; FYFE, L. Honey: a realistic antimicrobial for disorders of the skin. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 49, p. 161–167, 2016.

MEDA, A. et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 91, n. 3, p. 571–577, 2005a.

MEDA, A. et al. Physicochemical analyses of Burkina Fasan honey. **Acta Veterinaria Brno**, v. 74, p. 147–152, 2005b.

MERCOSUL. **Regulamento Técnico MERCOSUL “Identidade e Qualidade do Mel”.**

MERCOSUL/GMC/RES. N° 89/99. p. 1–6, 1999.

MINEKUS, M. et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. **Food & Function**, v. 5, n. 6, p. 1113, 2014.

MOREIRA, P. A. et al. Genetic diversity and mating system of bracatinga (*Mimosa scabrella*) in a re-emergent agroforestry system in southern Brazil. **Agroforestry Systems**, v. 83, n. 2, p. 245–256, 2011.

MOREIRA, R. F. A. et al. Chemical changes in the non-volatile fraction of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1236–1241, 2007.

MOREIRA, R. F. A. et al. Chemical changes in the volatile fractions of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, v. 121, n. 3, p. 697–704, 2010.

MOSELE, J. I. et al. Application of *in vitro* gastrointestinal digestion and colonic fermentation models to pomegranate products (juice, pulp and peel extract) to study the stability and catabolism of phenolic compounds. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 529–540, 2015.

NALDA, M. J. N. et al. Classifying honeys from the Soria Province of Spain via multivariate analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, n. 2, p. 311–319, 2005.

NASUTI, C. et al. Antioxidative and gastroprotective activities of anti-inflammatory formulations derived from chestnut honey in rats. **Nutrition Research**, v. 26, n. 3, p. 130–137, 2006.

NAVARRETE, M. et al. Direct determination of aliphatic acids in honey by coelectroosmotic capillary zone electrophoresis. **Journal of Apicultural Research**, v. 44, n. 2, p. 65–70, 2005.

NAYIK, G. A. et al. Discrimination of high altitude Indian honey by chemometric approach according to their antioxidant properties and macro minerals. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, n. 2, p. 200–207, 2018.

NAYIK, G. A.; DAR, B. N.; NANDA, V. Physico-chemical, rheological and sugar profile of different unifloral honeys from Kashmir valley of India. **Arabian Journal of Chemistry**, *in press*, 2015.

NAYIK, G. A.; NANDA, V. Effect of thermal treatment and pH on antioxidant activity of saffron honey using response surface methodology. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 10, n. 1, p. 64–70, 2016a.

NAYIK, G. A.; NANDA, V. A chemometric approach to evaluate the phenolic compounds, antioxidant activity and mineral content of different unifloral honey types from Kashmir, India. **LWT - Food Science and Technology**, v. 74, p. 504–513, 2016b.

NAYIK, G. A.; NANDA, V. Application of response surface methodology to study the combined effect of temperature, time and pH on antioxidant activity of cherry (*Prunus avium*) honey. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 66, n. 4, p. 287–294, 2016c.

NISBET, C. et al. The investigation of protein profile of different botanic origin honey and density saccharose- adulterated honey by SDS-PAGE method. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 15, n. 3, p. 443–446, 2009.

NOZAL, M. J. et al. Determination of oxalate, sulfate and nitrate in honey and honeydew by ion-chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 881, n. 1–2, p. 629–638, 2000.

NOZAL, M. J. et al. HPLC determination of low molecular weight organic acids in honey with series-coupled ion-exclusion columns. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 26, n. 8, p. 1231–1253, 2003.

O'SULLIVAN, A. M. et al. Comparison of the antioxidant activity of commercial honeys, before and after *in-vitro* digestion. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 63, n. 3, p. 167–171, 2013.

OHMENHAEUSER, M. et al. Qualitative and quantitative control of honeys using NMR spectroscopy and chemometrics. **ISRN Analytical Chemistry**, v. 2013, p. 1–9, 2013.

OLAITAN, P. B.; ADELEKE, O. E.; OLA, I. O. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. **African Health Sciences**, v. 7, n. 3, p. 159–165, 2007.

OLOFSSON, T. C.; VÁSQUEZ, A. Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. **Current Microbiology**, v. 57, n. 4, p. 356–363, 2008.

OLSZOWY, M. What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds

from plants? **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 144, p. 135–143, 2019.

ORAL, R. A.; DOGAN, M.; SARIOGLU, K. Effects of certain polyphenols and extracts on furans and acrylamide formation in model system, and total furans during storage. **Food Chemistry**, v. 142, p. 423–429, 2014.

OROIAN, M.; ROPCIUC, S. Romanian honey authentication using voltammetric electronic tongue. Correlation of voltammetric data with physico-chemical parameters and phenolic compounds. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 157, p. 371–379, 2019.

ORTH, A. I.; MARTINS, M. **Diversidade e abundância de insetos sobre as secreções de *Tachardiella* sp. (homoptera: lacifferidae) em troncos de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham - Mimosaceae) no planalto de Santa Catarina, Brasil.** In: VI Congresso de Ecologia do Brasil. Fortaleza, Ceará, 9 a 14 de novembro de 2003. Anais... Fortaleza, CE, 2003.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOHAMMADI, A. A. Application of honey as a protective material in maintaining the viability of adipose stem cells in burn wound healing: A histological, molecular and biochemical study. **Tissue and Cell**, v. 61, p. 89–97, 2019.

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, p. 98–118, 2016.

OSÉS, S. M. et al. Comparison of methods to determine antibacterial activity of honeys against *Staphylococcus aureus*. **NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences**, v. 78, p. 29–33, 2016.

ÖZCAN, M. Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. **Food Chemistry**, v. 84, n. 3, p. 437–440, 2004.

PASCUAL-MATÉ, A. et al. Sugar composition and sugar-related parameters of honeys from the northern Iberian Plateau. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 74, p. 34–43, 2018.

PÉREZ, R. A. et al. Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 2, p. 360–5, 2007.

PICHICHERO, E.; CANUTI, L.; CANINI, A. Characterisation of the phenolic and flavonoid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 4, p. 609–616, 2009.

PIMENTEL-GONZÁLEZ, D. J. et al. Potentiation of bioactive compounds and antioxidant activity in artisanal honeys using specific heat treatments. **Journal of Food Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 47–52, 2016.

PINACHO, R. et al. Phenolic compounds of blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and influence of *in vitro* digestion on their antioxidant capacity. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 49–62, 2015.

PISANI, A.; PROTANO, G.; RICCOBONO, F. Minor and trace elements in different honey types produced in Siena County (Italy). **Food Chemistry**, v. 107, n. 4, p. 1553–1560, 2008.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55–74, 2015.

PITA-CALVO, C.; VÁZQUEZ, M. Differences between honeydew and blossom honeys: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 79–87, 2017.

POHL, P. Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 1, p. 117–128, 2009.

POHL, P. et al. Different aspects of the elemental analysis of honey by flame atomic absorption and emission spectrometry: a review. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 4, p. 737–751, 2012a.

POHL, P. et al. Determination of the hydrophobic fraction of Ca, Fe, Mg and Zn in dark color honeys using solid phase extraction and flame atomic absorption spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 6, p. 1098–1103, 2012b.

POHL, P. et al. Bioaccessibility of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn and Zn from commercial bee honeys. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 392–396, 2012c.

PRASAD, K. N. Simultaneous activation of Nrf2 and elevation of antioxidant compounds for reducing oxidative stress and chronic inflammation in human Alzheimer's disease. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 153, p. 41–47, 2016.

- QAMER, S. et al. Effect of storage on various honey quality parameters of *Apis dorsata* honey from Nepal. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 45, n. 3, p. 741–747, 2013.
- RIZELIO, V. M. et al. Fast determination of cations in honey by capillary electrophoresis: a possible method for geographic origin discrimination. **Talanta**, v. 99, p. 450–456, 2012a.
- RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast MECK method for determination of 5-HMF in honey samples. **Food Chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1640–1645, 2012b.
- RODRÍGUEZ-FLORES, M. S. et al. Differentiation of oak honeydew and chestnut honeys from the same geographical origin using chemometric methods. **Food Chemistry**, v. 297, p. 124979, 2019.
- RÓŻAŃSKA, H.; OSEK, J. Effect of storage on microbiological quality of honey. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 56, n. 2, p. 161–163, 2012.
- RUFÍÁN-HENARES, J. A.; PASTORIZA, S. Maillard Reaction. In: **Encyclopedia of Food and Health**. Cambridge (Reino Unido): Elsevier, 2016.
- RYBAK-CHMIELEWSKA, H. Changes in the carbohydrate composition of honey undergoing during storage. **Journal of Apicultural Science**, v. 51, n. 1, p. 39–48, 2007.
- RYBAK-CHMIELEWSKA, H. et al. Characteristics of Polish unifloral honeys IV. Honeydew honey, mainly *Abies alba* L. **Journal of Apicultural Science**, v. 57, n. 1, p. 51–59, 2013.
- SALOMÉ, J. A.; ORTH, A. I. A flora apícola catarinense e sua ação sobre as colmeias. **Mensagem Doce Online**, n. 71, 2003.
- SALONEN, A. et al. Screening bioactivity and bioactive constituents of Nordic unifloral honeys. **Food Chemistry**, v. 237, p. 214–224, 2017.
- SANT’ANA, L. D. et al. Characterization of monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 1, p. C135–C140, 2012.
- SANZ, M. L. et al. 2-Furoylmethyl amino acids and hydroxymethylfurfural as indicators of honey quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4278–4283, 2003.

- SANZ, M. L. et al. A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. **Food Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 313–317, 2005.
- SANZ, M. L.; SANZ, J.; MARTÍNEZ-CASTRO, I. Gas chromatographic–mass spectrometric method for the qualitative and quantitative determination of disaccharides and trisaccharides in honey. **Journal of Chromatography A**, v. 1059, n. 1–2, p. 143–148, 2004.
- SAURA-CALIXTO, F.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 492–501, 2007.
- SAXENA, S.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. **Food Chemistry**, v. 118, n. 2, p. 391–397, 2010.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2073S–2085S, 2000.
- SCHEPARTZ, A. I.; SUBERS, M. H. The glucose oxidase of honey. I. Purification and some general properties of the enzyme. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 85, n. 2, p. 228–237, 1964.
- SCHULZ, M. et al. Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 228, p. 447–454, 2017.
- SEBRAE. **Manual de segurança e qualidade para apicultura**. Brasília (Distrito Federal): SEBRAE/NA, 2009.
- SENYUVA, H. Z. et al. Profiling Turkish honeys to determine authenticity using physical and chemical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 9, p. 3911–3919, 2009.
- SERAGLIO, S. K. T. et al. Development and validation of a LC-ESI-MS/MS method for the determination of phenolic compounds in honeydew honeys with the diluted-and-shoot approach. **Food Research International**, v. 87, p. 60–67, 2016.
- SERAGLIO, S. K. T. et al. Effect of *in vitro* gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds, minerals, and antioxidant capacity of *Mimosa scabrella* Benth honeydew honeys. **Food Research International**, v. 99, p. 670–678, 2017.

SERAGLIO, S. K. T. et al. An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. **Food Research International**, v. 119, p. 44–66, 2019.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757–781, 2015.

SHANG, M. et al. Oxidative stress and antioxidant status in women with gestational diabetes mellitus diagnosed by IADPSG criteria. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 109, n. 2, p. 404–410, 2015.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591–611, 1965.

SHAPLA, U. M. et al. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 1–18, 2018.

SILICI, S.; KARAMAN, K. Chemometric approaches for the characterization of Turkish rhododendron and honeydew honeys depending on amino acid composition. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 37, n. 6, p. 864–877, 2014.

SILICI, S.; SAGDIC, O.; EKICI, L. Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys. **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 238–243, 2010.

SILICI, S.; SARIOGLU, K.; KARAMAN, K. Determination of polyphenols of some Turkish honeydew and nectar honeys using HPLC-DAD. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 36, n. 16, p. 2330–2341, 2013.

SILVA, B. DA et al. Simplex-centroid design and Derringer's desirability function approach for simultaneous separation of phenolic compounds from *Mimosa scabrella* Benth honeydew honeys by HPLC/DAD. **Journal of Chromatography A**, v. 1585, p. 182–191, 2019a.

SILVA, P. M. DA et al. Honey: chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309–323, 2016.

SILVA, S. P. et al. Contribution of non-enzymatic transglycosylation reactions to the honey oligosaccharides origin and diversity. **Pure and Applied Chemistry**, v. 91, n. 7, p. 1231–1242, 2019b.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre (Rio Grande do Sul): Editora da UFRGS: Florianópolis (Santa Catarina): Editora da UFSC, 2010.

SINGH, T. K.; CADWALLADER, K. R. Ways of measuring shelf-life and spoilage. In: **Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food**. Cambridge (Reino Unido): Elsevier, 2004.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.

SITI, H. N.; KAMISAH, Y.; KAMSIAH, J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). **Vascular Pharmacology**, v. 71, p. 40–56, 2015.

SOARES, S. et al. Portuguese honeys from different geographical and botanical origins: a 4-year stability study regarding quality parameters and antioxidant activity. **Molecules**, v. 22, n. 8, p. 1338, 2017.

SOCHA, R. et al. Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 3, p. 528–534, 2011.

SOMARRIBA, E.; KASS, D. Estimates of above-ground biomass and nutrient accumulation in *Mimosa scabrella* fallows in southern Brazil. **Agroforestry Systems**, v. 51, n. 2, p. 77–84, 2001.

SORIA, A. C.; MARTÍNEZ-CASTRO, I.; SANZ, J. Some aspects of dynamic headspace analysis of volatile components in honey. **Food Research International**, v. 41, n. 8, p. 838–848, 2008.

SOUSA GALLAGHER, M. J.; MAHAJAN, P. V.; YAN, Z. Modelling chemical and physical deterioration of foods and beverages. In: **Food and Beverage Stability and Shelf Life**.

Cambridge (Reino Unido): Elsevier, 2011.

STECKA, H. et al. Determination of traces of copper and zinc in honeys by the solid phase extraction pre-concentration followed by the flame atomic absorption spectrometry detection. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, n. 10, p. 6145–6155, 2014.

SUÁREZ-LUQUE, S. et al. Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 955, n. 2, p. 207–214, 2002.

ŚWIECA, M. et al. The influence of protein-flavonoid interactions on protein digestibility in vitro and the antioxidant quality of breads enriched with onion skin. **Food Chemistry**, v. 141, n. 1, p. 451–458, 2013.

TAGLIAZUCCHI, D. et al. *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2, p. 599–606, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4 ed. Porto Alegre (Rio Grande do Sul): Artmed, 2009.

TAKAHASKI, T.; MITSUMOTO, M. Transformation and hydrolysis of D-glucono- $\gamma$  and  $\delta$ -lactone. **Nature**, v. 199, n. 4895, p. 765–767, 1963.

TERRAB, A. et al. Mineral content and electrical conductivity of the honeys produced in Northwest Morocco and their contribution to the characterisation of unifloral honeys. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 7, p. 637–643, 2003a.

TERRAB, A. et al. Characterisation of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis. **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 1, p. 88–95, 2003b.

TEZCAN, F. et al. Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 50, n. 1, p. 33–40, 2011.

TRAUTVETTER, S.; KOELLING-SPEER, I.; SPEER, K. Confirmation of phenolic acids and flavonoids in honeys by UPLC-MS. **Apidologie**, v. 40, n. 2, p. 140–150, 2009.

TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. **Nutrients**, v. 2, n. 12, p.

1231–1246, 2010.

TURHAN, I. et al. Quality of honeys influenced by thermal treatment. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 8, p. 1396–1399, 2008.

TURKMEN, N. et al. Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 653–657, 2006.

TURKUT, G. M. et al. Investigating 5-hydroxymethylfurfural formation kinetic and antioxidant activity in heat treated honey from different floral sources. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 12, n. 4, p. 2358–2365, 2018.

TYRAKOWSKA, B. et al. TEAC antioxidant activity of 4-hydroxybenzoates. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 27, n. 11–12, p. 1427–1436, 1999.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. **The United States Pharmacopeia and the National Formulary. USP 24-NF 19**. Rockville (Estados Unidos): The United States Pharmacopeia Convention, 2000.

VALKO, M. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, n. 1, p. 1–40, 2006.

VANHANEN, L. P.; EMMERTZ, A.; SAVAGE, G. P. Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 236–240, 2011.

VAQUERO, M. P. Magnesium and trace elements in the elderly: intake, status and recommendations. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 6, n. 2, p. 147–53, 2002.

VASIĆ, V. et al. Two aspects of honeydew honey authenticity: Application of advance analytical methods and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 305, p. 125457, 2020.

VELA, L.; LORENZO, C. DE; PÉREZ, R. A. Antioxidant capacity of Spanish honeys and its correlation with polyphenol content and other physicochemical properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 2, p. 1069–1075, 2007.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic compound biochemistry**. Dordrecht (Holanda): Springer Netherlands, 2006.

VICTORITA, B. et al. High-performance liquid chromatographic analysis of sugars in

Transylvanian honeydew honey. **Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies**, v. 65, n. 1–2, p. 229–232, 2008.

VISQUERT, M.; VARGAS, M.; ESCRICHE, I. Effect of postharvest storage conditions on the colour and freshness parameters of raw honey. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 1, p. 181–187, 2014.

WANG, Y. et al. Amino acid-dependent formation pathways of 2-acetylfuran and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3[2H]-furanone in the Maillard reaction. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 233–237, 2009.

WEINGARTEN, R. et al. Kinetics and reaction engineering of levulinic acid production from aqueous glucose solutions. **ChemSusChem**, v. 5, n. 7, p. 1280–1290, 2012.

WESTON, R.; BROCKLEBANK, L. K.; LU, Y. Identification and quantitative levels of antibacterial components of some New Zealand honeys. **Food Chemistry**, v. 70, n. 4, p. 427–435, 2000.

WITTER, S. et al. **Abelhas (Apidae) e cochonilhas (Stigmaticocidae), associadas à bracinga, para a produção de melato nos Campos de Cima Serra, RS, Brasil.** [s.l.] In: IX Encontro sobre Abelhas. Ribeirão Preto, São Paulo, de 28 a 31 de julho de 2010. Anais... Ribeirão Preto, SP, 2010.

WOLFF, L. F. et al. **Flora apícola arbórea nativa na região serrana de Pelotas para a apicultura sustentável na Metade Sul do Rio Grande do Sul. Documentos, 242.** Pelotas (Rio Grande do Sul): Embrapa Clima Temperado, 2008.

WOLFF, V. R. DOS S.; WITTER, S.; LISBOA, B. B. Reporte de *Stigmaticoccus paranaensis* Foldi (Hemiptera, Stigmaticocidae), insecto escama asociado con la producción de miel de mielato en Rio Grande do Sul, Brasil. **Insecta Mundi**, v. 434, p. 1–7, 2015.

WOOTTON-BEARD, P. C.; MORAN, A.; RYAN, L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 217–224, 2011.

WOOTTON-BEARD, P. C.; RYAN, L. A beetroot juice shot is a significant and convenient

source of bioaccessible antioxidants. **Journal of Functional Foods**, v. 3, n. 4, p. 329–334, 2011.

YÁÑEZ, D. A. C. et al. Antioxidant activity developed at the different stages of Maillard reaction with milk proteins. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, p. 344–349, 2018.

YOUNG, I. S.; WOODSIDE, J. V. Antioxidants in health and disease. **Journal of Clinical Pathology**, v. 54, n. 3, p. 176–186, 2001.

YÜCEL, Y.; SULTANOGLU, P. Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. **Food Bioscience**, v. 1, p. 16–25, 2013.

**ANEXO A – Parâmetros operacionais otimizados para análise de compostos fenólicos utilizando o monitoramento de reações múltiplas em modo positivo ou negativo** **(continua)**

| <b>Composto fenólico</b>      | <b>Tempo de retenção</b> | <b>Massa molar</b> | <b>Q1</b> | <b>Q3</b>     | <b>DPo</b> | <b>EP</b> | <b>Ce</b> | <b>CXP</b> |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------|-----------|---------------|------------|-----------|-----------|------------|
| Ácido 3,4-dihidroxibenzoico   | 3,18                     | 154,1              | 152,9*    | 109,0 / 90,90 | -75        | -10       | -20 / -32 | -7 / -13   |
| Ácido cafeico                 | 4,25                     | 180,2              | 178,9*    | 135,0 / 107,0 | -115       | -10       | -22 / -30 | -9 / -7    |
| Ácido clorogênico             | 3,76                     | 354,3              | 355,1     | 163,0 / 89,00 | 46         | 10        | 21 / 75   | 10 / 14    |
| Ácido ferúlico                | 5,20                     | 194,2              | 195,0     | 176,9 / 89,00 | 21         | 10        | 11 / 41   | 10 / 10    |
| Ácido gálico                  | 2,32                     | 170,1              | 168,9*    | 124,9 / 79,00 | -110       | -10       | -20 / -30 | -7 / -11   |
| Ácido <i>p</i> -aminobenzoico | 3,05                     | 137,1              | 138,0     | 77,00 / 94,00 | 56         | 10        | 29 / 19   | 10 / 8     |
| Ácido <i>p</i> -cumárico      | 4,99                     | 164,2              | 162,9*    | 119,0 / 93,00 | -90        | -10       | -20 / -40 | -7 / -5    |
| Ácido salicílico              | 6,10                     | 138,1              | 136,9*    | 93,10 / 64,90 | -15        | -10       | -22 / -36 | -5 / -11   |
| Ácido sinápico                | 5,13                     | 224,2              | 223,0*    | 163,9 / 192,9 | -120       | -10       | -20 / -28 | -9 / -11   |
| Ácido siríngico               | 4,30                     | 198,2              | 199,0     | 140,0 / 155,1 | 16         | 10        | 21 / 13   | 10 / 10    |
| Ácido vanílico                | 6,38                     | 168,1              | 166,9*    | 137,0 / 109,1 | -140       | -10       | -12 / -16 | -9 / -7    |
| Apigenina                     | 6,73                     | 270,2              | 271,0     | 153,0 / 90,90 | 181        | 10        | 41 / 49   | 10 / 14    |
| (+)-Catequina                 | 3,82                     | 290,3              | 291,0     | 139,0 / 123,0 | 16         | 10        | 21 / 19   | 10 / 8     |
| Coniferaldeído                | 5,71                     | 178,2              | 177,0*    | 134,0 / 160,8 | -30        | -10       | -28 / -28 | -9 / -11   |
| Crisina                       | 7,96                     | 254,2              | 253,0*    | 142,9 / 209,1 | -170       | -10       | -36 / -30 | -9 / -11   |
| (-)-Epicatequina              | 4,27                     | 290,3              | 291,0     | 138,9 / 123,0 | 36         | 10        | 21 / 21   | 8 / 8      |
| (-)-Epigallocatequina galato  | 4,33                     | 458,4              | 457,0*    | 169,0 / 125,0 | -165       | -10       | -20 / -52 | -11 / -9   |
| Galangina                     | 8,13                     | 270,2              | 271,0     | 153,0 / 115,1 | 176        | 10        | 43 / 59   | 10 / 8     |
| Hesperidina                   | 5,38                     | 610,5              | 611,2     | 303,0 / 153,1 | 51         | 10        | 31 / 67   | 16 / 10    |
| Isoramnetina                  | 6,92                     | 316,3              | 315,0*    | 300,0 / 150,9 | -225       | -10       | -28 / -38 | -15 / -9   |
| Kaempferol                    | 6,85                     | 286,2              | 286,9     | 153,0 / 68,90 | 111        | 10        | 43 / 89   | 10 / 10    |
| Luteolina                     | 6,24                     | 286,2              | 286,9     | 153,0 / 68,90 | 111        | 10        | 43 / 89   | 10 / 10    |
| 4-Metilumbeliferona           | 5,78                     | 176,2              | 174,9*    | 133,0 / 119,1 | -135       | -10       | -28 / -36 | -9 / -7    |
| Naringenina                   | 6,80                     | 272,2              | 271,0*    | 151,0 / 119,0 | -130       | -10       | -24 / -34 | -25 / -11  |
| Naringina                     | 5,32                     | 580,5              | 579,0*    | 271,0 / 151,0 | -255       | -10       | -42 / -48 | -13 / -9   |
| Pinobanksina                  | 6,83                     | 272,2              | 271,0*    | 150,9 / 119,5 | -140       | -10       | -24 / -32 | -9 / -7    |
| Pinocebrina                   | 8,10                     | 256,2              | 257,0     | 153,0 / 76,90 | 96         | 10        | 33 / 73   | 10 / 10    |

**ANEXO A - Parâmetros operacionais otimizados para análise de compostos fenólicos utilizando o monitoramento de reações múltiplas em modo positivo ou negativo (conclusão)**

| <b>Composto fenólico</b> | <b>Tempo de retenção</b> | <b>Massa molar</b> | <b>Q1</b> | <b>Q3</b>     | <b>DPo</b> | <b>EP</b> | <b>Ce</b> | <b>CXP</b> |
|--------------------------|--------------------------|--------------------|-----------|---------------|------------|-----------|-----------|------------|
| Quercetina               | 6,29                     | 302,2              | 301,0*    | 150,9 / 121,0 | -50        | -10       | -28 / -34 | -9 / -7    |
| Rutina                   | 4,82                     | 610,5              | 609,0*    | 299,9 / 270,9 | -230       | -10       | -48 / -70 | -15 / -9   |
| Sinapaldeído             | 5,64                     | 208,2              | 206,9*    | 177,0 / 148,9 | -20        | -10       | -26 / -34 | -11 / -9   |
| Siringaldeído            | 5,07                     | 182,2              | 183,0     | 123,1 / 77,00 | 41         | 10        | 17 / 31   | 8 / 10     |

Legenda: \* analitos com modo de ionização negativo; Q1 – massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ) do íon precursor no modo positivo ou negativo; Q3 – massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ) do íon de quantificação e de confirmação, respectivamente; potencial de agrupamento (DPo, do inglês, *declustering potential*); potencial de entrada (EP, do inglês, *entrance potential*); energia de colisão (Ce, do inglês, *collision energy*); potencial de saída da célula de colisão (CXP, do inglês, *collision cell exit potential*).

**Fonte:** Adaptado de Seraglio et al. (2016).

## ANEXO B – Parâmetros de validação para os compostos fenólicos avaliados

(continua)

| Composto fenólico             | Faixa linear<br>( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | $R^2$ | Recuperação        |                 |                | Limite de<br>detecção<br>( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Limite de<br>quantificação<br>Média $\pm$ desvio<br>padrão ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|-------------------------------|--|-------|--------------------|-----------------|----------------|---|---|
|                               |  |       | Nível baixo<br>(%) | Nível médio (%) | Nível alto (%) |   |   |
| Ácido 3,4-dihidroxibenzóico   | 25,0 – 225,0                             | 0,998 | 98,0               | 103,4           | 101,6          | 0,40  | 0,80 $\pm$ 0,01   |
| Ácido cafeico                 | 3,2 – 20,9                               | 0,996 | 71,8               | 77,0            | 80,1           | 1,60  | 3,20 $\pm$ 0,22   |
| Ácido clorogênico             | 0,4 – 25,0                               | 0,997 | 84,7               | 87,3            | 93,8           | 0,10  | 0,40 $\pm$ 0,04   |
| Ácido ferúlico                | 3,2 – 25,0                               | 0,987 | 93,0               | 92,8            | 98,9           | 1,60  | 3,20 $\pm$ 0,19   |
| Ácido gálico                  | 1,6 – 25,0                               | 0,988 | 97,8               | 106,0           | 93,1           | 0,80  | 1,60 $\pm$ 0,22   |
| Ácido <i>p</i> -aminobenzóico | 1,6 – 20,9                               | 0,987 | 81,1               | 84,9            | 79,6           | 0,20  | 1,60 $\pm$ 0,14   |
| Ácido <i>p</i> -cumárico      | 0,8 – 25,0                               | 0,995 | 96,7               | 95,2            | 87,7           | 0,20  | 0,80 $\pm$ 0,07   |
| Ácido salicílico              | 25,0 – 225,0                             | 0,995 | 108,3              | 109,2           | 109,6          | 0,20  | 3,20 $\pm$ 0,43   |
| Ácido sinápico                | 0,8 – 25,0                               | 0,996 | 70,4               | 70,7            | 93,4           | 0,20  | 0,80 $\pm$ 0,09   |
| Ácido siríngico               | 1,6 – 25,0                               | 0,995 | 106,2              | 109,7           | 101,3          | 0,80  | 1,60 $\pm$ 0,14   |
| Ácido vanílico                | 0,4 – 25,0                               | 0,986 | 101,5              | 103,0           | 98,2           | 0,20  | 0,40 $\pm$ 0,05   |
| Apigenina                     | 0,8 – 25,0                               | 0,997 | 92,3               | 106,7           | 100,1          | 0,20  | 0,80 $\pm$ 0,06   |
| (+)-Catequina                 | 1,6 – 25,0                               | 0,987 | 102,1              | 93,4            | 89,9           | 0,40  | 1,60 $\pm$ 0,19   |
| Coniferaldeído                | 1,6 – 25,0                               | 0,994 | 91,5               | 96,0            | 84,6           | 0,20  | 1,60 $\pm$ 0,21   |
| Crisina                       | 0,8 – 20,9                               | 0,998 | 87,9               | 95,2            | 89,9           | 0,20  | 0,80 $\pm$ 0,09   |
| (-)-Epicatequina              | 1,6 – 25,0                               | 0,998 | 80,0               | 107,0           | 101,1          | 0,40  | 1,60 $\pm$ 0,19   |
| (-)-Epigallocatequina galato  | 0,8 – 20,9                               | 0,999 | 78,9               | 85,5            | 75,5           | 0,03  | 0,80 $\pm$ 0,11   |
| Galangina                     | 1,6 – 25,0                               | 0,994 | 92,9               | 103,0           | 98,7           | 0,20  | 1,60 $\pm$ 0,15   |
| Hesperidina                   | 0,4 – 25,0                               | 0,990 | 92,5               | 100,6           | 98,9           | 0,20  | 0,40 $\pm$ 0,05   |
| Isoramnetina                  | 0,5 – 26,1                               | 0,998 | 92,9               | 103,4           | 92,2           | 0,13  | 0,50 $\pm$ 0,04   |
| Kaempferol                    | 1,6 – 25,0                               | 0,997 | 102,0              | 107,5           | 96,5           | 0,20  | 1,60 $\pm$ 0,29   |
| Luteolina                     | 0,4 – 25,0                               | 0,992 | 98,5               | 107,1           | 94,2           | 0,20  | 0,40 $\pm$ 0,07   |
| 4-Metilumbeliferona           | 0,8 – 25,0                               | 0,990 | 100,9              | 91,8            | 89,4           | 0,20  | 0,80 $\pm$ 0,04   |
| Naringenina                   | 0,2 – 20,9                               | 0,994 | 94,7               | 96,8            | 94,3           | 0,10  | 0,20 $\pm$ 0,02   |
| Naringina                     | 0,8 – 25,0                               | 0,996 | 91,0               | 90,5            | 89,9           | 0,05  | 0,80 $\pm$ 0,12   |

## ANEXO B – Parâmetros de validação para os compostos fenólicos avaliados

(conclusão)

| Composto fenólico | Faixa linear          | R <sup>2</sup> | Recuperação     |                 |                | Limite de detecção    | Limite de quantificação                     |
|-------------------|-----------------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------------|---|
|                   | (µg L <sup>-1</sup> ) |                | Nível baixo (%) | Nível médio (%) | Nível alto (%) | (µg L <sup>-1</sup> ) | Média ± desvio padrão (µg L <sup>-1</sup> ) |
| Pinobanksina      | 0,5 – 28,7            | 0,996          | 97,2            | 100,2           | 97,0           | 0,03                  | 0,46 ± 0,02                                 |
| Pinocembrina      | 0,4 – 25,0            | 0,994          | 88,3            | 99,1            | 97,2           | 0,20                  | 0,40 ± 0,03                                 |
| Quercetina        | 0,8 – 25,0            | 0,987          | 92,4            | 98,3            | 87,3           | 0,05                  | 0,80 ± 0,05                                 |
| Rutina            | 0,4 – 25,0            | 0,991          | 100,6           | 109,6           | 101,0          | 0,10                  | 0,40 ± 0,06                                 |
| Sinapaldeído      | 0,4 – 25,0            | 0,998          | 97,3            | 93,2            | 92,4           | 0,20                  | 0,40 ± 0,07                                 |
| Siringaldeído     | 1,6 – 20,9            | 0,994          | 90,4            | 95,0            | 98,6           | 0,40                  | 1,60 ± 0,14                                 |

Fonte: Adaptado de Seraglio et al. (2016).

### ANEXO C – Parâmetros de validação para 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF), ácidos orgânicos alifáticos e aminoácidos

Para a linearidade e efeito de matriz, foram preparadas duas curvas de calibração, construídas em cinco níveis de concentração em três réplicas independentes: (a) curva de calibração em água; e (b) curva de calibração em matriz, usando o método de adição de padrão (amostra fortificada com solução padrão). O efeito de matriz foi avaliado pelo *t*-teste, comparando o coeficiente angular da curva de calibração em água e da curva de calibração em matriz (ARMITAGE; BERRY; MATTHEWS, 2002). Como não foi observado efeito de matriz, a curva de calibração em água foi utilizada e a adequação dessa a alguns parâmetros foi investigada: os resíduos foram avaliados em relação à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965), a homoscedasticidade pelo teste de Levene (LEVENE, 1960) e a independência pelo teste de Durbin-Watson (DURBIN; WATSON, 1950). Todos os testes estatísticos foram realizados ao nível de 5 % de significância ( $p < 0,05$ ).

Para a repetibilidade, três réplicas independentes da curva de calibração em água (cinco níveis de concentração) foram injetadas no mesmo dia. O mesmo procedimento foi realizado em três dias diferentes por analistas diferentes ( $n=9$ ) para a avaliação da reprodutibilidade parcial. Os resultados foram apresentados como desvio padrão relativo (% DPR) para a área corrigida do pico.

Para a precisão aparente, seis réplicas independentes de uma amostra fortificada com solução padrão em três níveis de concentração da curva de calibração (baixa, média e alta) foram injetadas e a porcentagem de recuperação foi calculada.

O limite de detecção (sinal / ruído  $\geq 3$ ) e o limite de quantificação (sinal / ruído  $\geq 10$ ) foram determinados em solução padrão.

#### Performance analítica para 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF), ácidos orgânicos alifáticos e aminoácidos por eletroforese capilar (continua)

| Parâmetro                               | 5-HMF        | Ácido orgânico alifático |                |                 |               |               |              |                 |               |                 |                 |                 | Aminoácido    |                  |                 |                 |
|---|--------------|--------------------------|----------------|-----------------|---------------|---------------|--------------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|------------------|-----------------|-----------------|
|   |              | Ácido maleico            | Ácido malônico | Ácido tartárico | Ácido fórmico | Ácido cítrico | Ácido málico | Ácido glicólico | Ácido láctico | Ácido glucônico | Ácido succínico | Ácido glutárico | Ácido acético | Ácido propiônico | Ácido aspártico | Ácido glutâmico |
| <b>Faixa linear (mg L<sup>-1</sup>)</b> | 1,00 – 40,00 | 6,97 – 55,73             | 6,24 – 49,95   | 9,00 – 72,04    | 2,76 – 22,09  | 11,53 – 92,22 | 8,05 – 64,36 | 4,56 – 36,50    | 5,40 – 43,24  | 13,09 – 104,71  | 7,08 – 56,68    | 7,93 – 63,41    | 3,60 – 28,82  | 4,44 – 35,56     | 7,99 – 63,89    | 8,83 – 70,62    |
| <b>Efeito de matriz<sup>a</sup></b>     |              |                          |                |                 |               |               |              |                 |               |                 |                 |                 |               |                  |                 |                 |
| Valor de <i>p</i> pelo <i>t</i> -teste  | 0,151        | 0,056                    | 0,220          | 0,284           | 0,810         | 0,214         | 0,452        | 0,088           | 0,520         | 0,728           | 0,371           | 0,322           | 0,568         | 0,874            | 0,593           | 0,995           |

Performance analítica para 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF), ácidos orgânicos alifáticos e aminoácidos por eletroforese capilar (conclusão)

| Parâmetro  | Ácido orgânico alifático |               |                |                 |               |               |              |                 |               |                 |                 |                 |               | Aminoácido       |                 |                 |
|--|--------------------------|---------------|----------------|-----------------|---------------|---------------|--------------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|------------------|-----------------|-----------------|
|  | 5-HMF                    | Ácido maleico | Ácido malônico | Ácido tartárico | Ácido fórmico | Ácido cítrico | Ácido málico | Ácido glicólico | Ácido láctico | Ácido glucônico | Ácido succínico | Ácido glutárico | Ácido acético | Ácido propiônico | Ácido aspártico | Ácido glutâmico |
| <b>Linearidade<sup>a</sup></b>                                   |                          |               |                |                 |               |               |              |                 |               |                 |                 |                 |               |                  |                 |                 |
| Valor de <i>p</i> pelo teste Shapiro–Wilk                        | 0,099                    | 0,174         | 0,304          | 0,103           | 0,383         | 0,337         | 0,067        | 0,334           | 0,759         | 0,415           | 0,057           | 0,055           | 0,974         | 0,171            | 0,220           | 0,618           |
| Valor de <i>p</i> pelo teste Levene                              | 0,442                    | 0,161         | 0,801          | 0,526           | 0,714         | 0,255         | 0,495        | 0,230           | 0,838         | 0,675           | 0,657           | 0,586           | 0,584         | 0,350            | 0,769           | 0,538           |
| Resultado do teste de Durbin-Watson                              | Independente             | Independente  | Independente   | Independente    | Independente  | Independente  | Independente | Independente    | Independente  | Independente    | Independente    | Independente    | Independente  | Independente     | Independente    | Independente    |
| <b>Repetibilidade<sup>b</sup></b>                                |                          |               |                |                 |               |               |              |                 |               |                 |                 |                 |               |                  |                 |                 |
| Área corrigida do pico ( <i>n</i> =3; % DPR)                     | 0,6 – 4,4                | 0,4 – 4,1     | 0,9 – 4,6      | 1,6 – 3,5       | 1,0 – 4,8     | 1,1 – 3,2     | 1,2 – 4,1    | 0,6 – 3,6       | 0,9 – 4,9     | 1,5 – 4,9       | 1,5 – 4,7       | 1,0 – 4,5       | 1,8 – 4,4     | 1,3 – 3,9        | 0,8 – 4,8       | 1,5 – 4,5       |
| <b>Reprodutibilidade parcial<sup>b</sup></b>                     |                          |               |                |                 |               |               |              |                 |               |                 |                 |                 |               |                  |                 |                 |
| Área corrigida do pico ( <i>n</i> =9; % DPR)                     | 1,4 – 5,2                | 3,5 – 5,9     | 2,1 – 5,2      | 2,5 – 4,6       | 0,7 – 5,5     | 3,1 – 6,1     | 0,9 – 4,8    | 2,2 – 6,4       | 2,5 – 5,1     | 1,2 – 4,6       | 0,9 – 4,8       | 2,7 – 5,7       | 0,8 – 4,5     | 1,6 – 5,1        | 1,3 – 4,6       | 2,1 – 5,5       |
| <b>Precisão aparente<sup>c</sup> (<i>n</i>=6; % recuperação)</b> |                          |               |                |                 |               |               |              |                 |               |                 |                 |                 |               |                  |                 |                 |
| Nível baixo  | 80,7                     | 108,4         | 92,5           | 101,9           | 105,4         | 107,0         | 93,0         | 102,4           | 100,3         | 102,7           | 105,2           | 105,0           | 107,3         | 101,4            | 89,4            | 99,7            |
| Nível médio  | 92,4                     | 105,7         | 108,8          | 103,2           | 103,1         | 115,5         | 101,3        | 114,1           | 104,5         | 95,6            | 104,1           | 101,4           | 107,9         | 97,7             | 102,3           | 100,1           |
| Nível alto   | 94,9                     | 107,8         | 109,5          | 108,7           | 105,7         | 103,8         | 104,9        | 102,3           | 102,6         | 98,2            | 102,8           | 106,6           | 109,6         | 99,8             | 103,9           | 101,5           |
| <b>Limites (mg kg<sup>-1</sup>)</b>                              |                          |               |                |                 |               |               |              |                 |               |                 |                 |                 |               |                  |                 |                 |
| LD   | 0,60                     | 8,70          | 7,80           | 11,25           | 3,45          | 14,40         | 10,05        | 5,70            | 6,75          | 16,35           | 8,85            | 9,90            | 4,50          | 5,55             | 9,95            | 11,05           |
| LQ   | 2,00                     | 34,85         | 31,20          | 45,05           | 13,80         | 57,65         | 40,25        | 22,80           | 27,00         | 65,45           | 35,40           | 39,65           | 18,00         | 22,20            | 39,95           | 44,15           |

Limite de detecção (LD); limite de quantificação (LQ); Desvio padrão relativo (% DPR);

<sup>a</sup> Linearidade e efeito matriz foram estudados em toda a faixa linear (cinco níveis de concentração) com três experimentos independentes (*n*=3) em cada nível de concentração;

<sup>b</sup> Faixa de precisão relacionada a toda a faixa linear (cinco níveis de concentração);

° Baixo nível de: 1,00 mg L<sup>-1</sup> para 5-HMF; 6,97 mg L<sup>-1</sup> para ácido maleico; 6,24 mg L<sup>-1</sup> para ácido malônico; 9,00 mg L<sup>-1</sup> para ácido tartárico; 2,76 mg L<sup>-1</sup> para ácido fórmico; 11,53 mg L<sup>-1</sup> para ácido cítrico; 8,05 mg L<sup>-1</sup> para ácido málico; 4,56 mg L<sup>-1</sup> para ácido glicólico; 5,40 mg L<sup>-1</sup> para ácido láctico; 13,09 mg L<sup>-1</sup> para ácido glucônico; 7,08 mg L<sup>-1</sup> para ácido succínico; 7,93 mg L<sup>-1</sup> para ácido glutárico; 3,60 mg L<sup>-1</sup> para ácido acético; 4,44 mg L<sup>-1</sup> para ácido propiônico; 7,99 mg L<sup>-1</sup> para ácido aspártico; 8,83 mg L<sup>-1</sup> para ácido glutâmico.

Nível médio de: 10,00 mg L<sup>-1</sup> para 5-HMF; 27,86 mg L<sup>-1</sup> para ácido maleico; 24,97 mg L<sup>-1</sup> para ácido malônico; 36,02 mg L<sup>-1</sup> para ácido tartárico; 11,05 mg L<sup>-1</sup> para ácido fórmico; 46,11 mg L<sup>-1</sup> para ácido cítrico; 32,18 mg L<sup>-1</sup> para ácido málico; 18,25 mg L<sup>-1</sup> para ácido glicólico; 21,62 mg L<sup>-1</sup> para ácido láctico; 52,35 mg L<sup>-1</sup> para ácido glucônico; 28,34 mg L<sup>-1</sup> para ácido succínico; 31,71 mg L<sup>-1</sup> para ácido glutárico; 14,41 mg L<sup>-1</sup> para ácido acético; 17,78 mg L<sup>-1</sup> para ácido propiônico; 31,95 mg L<sup>-1</sup> para ácido aspártico; 35,31 mg L<sup>-1</sup> para ácido glutâmico.

Alto nível de: 40,00 mg L<sup>-1</sup> para 5-HMF; 55,73 mg L<sup>-1</sup> para ácido maleico; 49,95 mg L<sup>-1</sup> para ácido malônico; 72,04 mg L<sup>-1</sup> para ácido tartárico; 22,09 mg L<sup>-1</sup> para ácido fórmico; 92,22 mg L<sup>-1</sup> para ácido cítrico; 64,36 mg L<sup>-1</sup> para ácido málico; 36,50 mg L<sup>-1</sup> para ácido glicólico; 43,24 mg L<sup>-1</sup> para ácido láctico; 104,71 mg L<sup>-1</sup> para ácido glucônico; 56,68 mg L<sup>-1</sup> para ácido succínico; 63,41 mg L<sup>-1</sup> para ácido glutárico; 28,82 mg L<sup>-1</sup> para ácido acético; 35,56 mg L<sup>-1</sup> para ácido propiônico; 63,89 mg L<sup>-1</sup> para ácido aspártico; 70,62 mg L<sup>-1</sup> para ácido glutâmico.

**Fonte:** Próprio autor (2019).

**ANEXO D – Coeficientes de correlação obtidos entre diferentes parâmetros avaliados no mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) estocado**

| <b>Parâmetro</b>              | <b>Umidade</b> | <b>Acidez livre</b> | <b>Acidez em lactona</b> | <b>pH</b> | <b>5-HMF</b> | <b>Atividade diastásica</b> | <b>Condutividade elétrica</b> | <b>Frutose</b> | <b>Glicose</b> | <b>Maltose</b> |
|-------------------------------|----------------|---------------------|--------------------------|-----------|--------------|-----------------------------|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>Acidez livre</b>           | -0,283         | 1                   | -                        | -         | -            | -                           | -                             | -              | -              | -              |
| <b>Acidez em lactona</b>      | 0,311          | -0,990*             | 1                        | -         | -            | -                           | -                             | -              | -              | -              |
| <b>pH</b>                     | 0,217          | -0,952*             | 0,966*                   | 1         | -            | -                           | -                             | -              | -              | -              |
| <b>5-HMF</b>                  | -0,866*        | 0,469               | -0,543                   | -0,464    | 1            | -                           | -                             | -              | -              | -              |
| <b>Atividade diastásica</b>   | 0,690          | -0,773*             | 0,832*                   | 0,797*    | -0,904*      | 1                           | -                             | -              | -              | -              |
| <b>Condutividade elétrica</b> | -0,678         | 0,654               | -0,649                   | -0,670    | 0,654        | -0,776*                     | 1                             | -              | -              | -              |
| <b>Frutose</b>                | 0,583          | -0,849*             | 0,889*                   | 0,888*    | -0,798*      | 0,969*                      | -0,799*                       | 1              | -              | -              |
| <b>Glicose</b>                | 0,687          | -0,787*             | 0,838*                   | 0,808*    | -0,890*      | 0,994*                      | -0,789*                       | 0,984*         | 1              | -              |
| <b>Maltose</b>                | -0,518         | 0,864*              | -0,897*                  | -0,919*   | 0,728*       | -0,937*                     | 0,795*                        | -0,992*        | -0,957*        | 1              |
| <b>Ácido glutárico</b>        | 0,582          | -0,775*             | 0,821*                   | 0,850*    | -0,794*      | 0,908*                      | -0,809*                       | 0,963*         | 0,919*         | -0,970*        |
| <b>Ácido glicólico</b>        | -0,431         | 0,836*              | -0,855*                  | -0,916*   | 0,616        | -0,858*                     | 0,814*                        | -0,954*        | -0,892*        | 0,977*         |
| <b>Ácido fórmico</b>          | -0,701*        | 0,760*              | -0,815*                  | -0,778*   | 0,910*       | -0,992*                     | 0,758*                        | -0,974*        | -0,998*        | 0,941*         |
| <b>Ácido acético</b>          | -0,422         | 0,937*              | -0,961*                  | -0,955*   | 0,656        | -0,899*                     | 0,725*                        | -0,957*        | -0,915*        | 0,958*         |
| <b>Ácido glucônico</b>        | -0,113         | 0,970*              | -0,966*                  | -0,981*   | 0,352        | -0,707*                     | 0,581                         | -0,816*        | -0,725*        | 0,849*         |
| <b>Ácido láctico</b>          | -0,244         | 0,973*              | -0,968*                  | -0,986*   | 0,437        | -0,772*                     | 0,707*                        | -0,875*        | -0,792*        | 0,909*         |
| <b>Ácido succínico</b>        | 0,461          | -0,187              | 0,210                    | 0,129     | -0,446       | 0,386                       | -0,268                        | 0,310          | 0,372          | -0,302         |
| <b>Ácido cítrico</b>          | -0,268         | 0,863*              | -0,887*                  | -0,928*   | 0,550        | -0,814*                     | 0,657                         | -0,918*        | -0,849*        | 0,933*         |
| <b>Ácido málico</b>           | 0,376          | 0,510               | -0,478                   | -0,608    | -0,199       | -0,143                      | 0,217                         | -0,343         | -0,195         | 0,408          |
| <b>Ácido aspártico</b>        | 0,531          | -0,903*             | 0,929*                   | 0,928*    | -0,730*      | 0,941*                      | -0,814*                       | 0,989*         | 0,958*         | -0,988*        |
| <b>Ácido glutâmico</b>        | 0,428          | -0,955*             | 0,976*                   | 0,969*    | -0,701*      | 0,908*                      | -0,755*                       | 0,963*         | 0,919*         | -0,970*        |

Legenda: 5-HMF – 5-hidroxi-metilfurfural; (-) – não aplicável; \*  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ .

Fonte: Próprio autor (2019).

**ANEXO E – Umidade, açúcares, condutividade elétrica, acidez, pH, atividade diastásica e 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF) de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (continua)**

| Parâmetro  | Amostra                                    | Armazenamento              |                            |                            |                            |                            |                            |                            |                            |
|--|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|  |  | 0 meses                    | 4 meses – TA               | 8 meses – TA               | 12 meses – TA              | 16 meses – TA              | 20 meses – TA              | 24 meses – TA              | 4 meses – TC               |
| Umidade<br>(g 100 g <sup>-1</sup> )                | UR1  | 15,93 ± 0,12 <sup>a</sup>  | 15,80 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 15,80 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 15,93 ± 0,12 <sup>a</sup>  | 15,80 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 15,87 ± 0,23 <sup>a</sup>  | 15,80 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 15,67 ± 0,23 <sup>a</sup>  |
|  | UR2  | 16,20 ± 0,20 <sup>a</sup>  | 16,00 ± 0,00 <sup>ab</sup> | 16,07 ± 0,23 <sup>ab</sup> | 16,27 ± 0,23 <sup>a</sup>  | 16,00 ± 0,00 <sup>ab</sup> | 16,00 ± 0,00 <sup>ab</sup> | 15,93 ± 0,11 <sup>ab</sup> | 15,80 ± 0,00 <sup>b</sup>  |
|  | UR3  | 15,47 ± 0,23 <sup>a</sup>  | 15,33 ± 0,11 <sup>ab</sup> | 15,40 ± 0,00 <sup>ab</sup> | 15,60 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 15,40 ± 0,00 <sup>ab</sup> | 15,60 ± 0,20 <sup>a</sup>  | 15,53 ± 0,12 <sup>a</sup>  | 15,07 ± 0,12 <sup>b</sup>  |
|  | BS1  | 16,53 ± 0,23 <sup>a</sup>  | 16,40 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 16,47 ± 0,23 <sup>a</sup>  | 16,53 ± 0,12 <sup>a</sup>  | 16,60 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 16,40 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 16,60 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 16,27 ± 0,23 <sup>a</sup>  |
|  | LG1  | 15,60 ± 0,00 <sup>ab</sup> | 15,60 ± 0,00 <sup>ab</sup> | 15,80 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 15,73 ± 0,12 <sup>a</sup>  | 15,80 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 15,60 ± 0,00 <sup>ab</sup> | 15,80 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 15,40 ± 0,20 <sup>b</sup>  |
|  | LG2  | 16,80 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 16,67 ± 0,23 <sup>a</sup>  | 16,60 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 16,73 ± 0,12 <sup>a</sup>  | 16,67 ± 0,23 <sup>a</sup>  | 16,67 ± 0,23 <sup>a</sup>  | 16,80 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 16,53 ± 0,23 <sup>a</sup>  |
|  | Acidez<br>livre<br>(mEq kg <sup>-1</sup> ) | UR1                        | 47,26 ± 0,73 <sup>c</sup>  | 48,33 ± 0,06 <sup>c</sup>  | 53,01 ± 0,24 <sup>d</sup>  | 56,22 ± 1,00 <sup>c</sup>  | 57,71 ± 0,03 <sup>b</sup>  | 56,02 ± 0,47 <sup>c</sup>  | 59,61 ± 0,26 <sup>a</sup>  |
| UR2  |  | 45,70 ± 0,82 <sup>f</sup>  | 51,13 ± 0,35 <sup>c</sup>  | 55,20 ± 0,01 <sup>d</sup>  | 59,07 ± 0,96 <sup>c</sup>  | 62,92 ± 0,00 <sup>b</sup>  | 63,98 ± 0,25 <sup>b</sup>  | 64,18 ± 0,48 <sup>b</sup>  | 66,41 ± 0,53 <sup>a</sup>  |
| UR3  |  | 46,29 ± 0,15 <sup>c</sup>  | 50,77 ± 0,47 <sup>d</sup>  | 58,85 ± 0,24 <sup>c</sup>  | 61,27 ± 0,76 <sup>b</sup>  | 63,58 ± 0,50 <sup>a</sup>  | 63,49 ± 1,17 <sup>a</sup>  | 64,23 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 64,92 ± 0,98 <sup>a</sup>  |
| BS1  |  | 45,05 ± 0,26 <sup>c</sup>  | 53,00 ± 0,32 <sup>d</sup>  | 58,85 ± 0,72 <sup>c</sup>  | 60,50 ± 0,98 <sup>bc</sup> | 62,22 ± 0,93 <sup>ab</sup> | 62,79 ± 1,45 <sup>ab</sup> | 63,23 ± 0,49 <sup>a</sup>  | 64,46 ± 0,93 <sup>a</sup>  |
| LG1  |  | 48,70 ± 1,13 <sup>c</sup>  | 59,81 ± 0,29 <sup>d</sup>  | 64,23 ± 0,26 <sup>c</sup>  | 66,81 ± 1,24 <sup>b</sup>  | 68,99 ± 0,25 <sup>b</sup>  | 68,58 ± 0,01 <sup>b</sup>  | 72,42 ± 1,45 <sup>a</sup>  | 72,97 ± 0,71 <sup>a</sup>  |
| LG2  |  | 46,44 ± 1,47 <sup>c</sup>  | 54,47 ± 0,70 <sup>b</sup>  | 56,15 ± 0,50 <sup>b</sup>  | 59,33 ± 0,69 <sup>a</sup>  | 60,99 ± 1,18 <sup>a</sup>  | 58,91 ± 0,01 <sup>a</sup>  | 60,13 ± 0,74 <sup>a</sup>  | 60,15 ± 0,12 <sup>a</sup>  |
| Acidez<br>em<br>lactona<br>(mEq kg <sup>-1</sup> ) |  | UR1                        | 7,68 ± 0,26 <sup>a</sup>   | 7,25 ± 0,24 <sup>ab</sup>  | 6,94 ± 0,13 <sup>bc</sup>  | 6,65 ± 0,29 <sup>bcd</sup> | 6,57 ± 0,29 <sup>bcd</sup> | 6,39 ± 0,29 <sup>cd</sup>  | 6,22 ± 0,15 <sup>d</sup>   |
|  | UR2  | 7,41 ± 0,29 <sup>a</sup>   | 7,19 ± 0,14 <sup>a</sup>   | 7,01 ± 0,13 <sup>ab</sup>  | 6,57 ± 0,15 <sup>bc</sup>  | 6,49 ± 0,14 <sup>bc</sup>  | 6,31 ± 0,25 <sup>c</sup>   | 6,30 ± 0,25 <sup>c</sup>   | 6,14 ± 0,28 <sup>c</sup>   |
|  | UR3  | 8,67 ± 0,16 <sup>a</sup>   | 8,16 ± 0,14 <sup>ab</sup>  | 7,62 ± 0,26 <sup>bc</sup>  | 7,32 ± 0,28 <sup>c</sup>   | 7,25 ± 0,29 <sup>c</sup>   | 7,40 ± 0,29 <sup>c</sup>   | 7,32 ± 0,25 <sup>c</sup>   | 7,11 ± 0,28 <sup>c</sup>   |
|  | BS1  | 8,47 ± 0,00 <sup>a</sup>   | 8,23 ± 0,24 <sup>ab</sup>  | 7,77 ± 0,23 <sup>bc</sup>  | 7,24 ± 0,25 <sup>cd</sup>  | 7,18 ± 0,25 <sup>cd</sup>  | 7,40 ± 0,15 <sup>cd</sup>  | 7,31 ± 0,25 <sup>cd</sup>  | 7,03 ± 0,25 <sup>d</sup>   |
|  | LG1  | 8,68 ± 0,22 <sup>a</sup>   | 8,24 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 7,47 ± 0,26 <sup>b</sup>   | 7,49 ± 0,00 <sup>b</sup>   | 7,42 ± 0,00 <sup>b</sup>   | 7,32 ± 0,25 <sup>bc</sup>  | 7,06 ± 0,25 <sup>bc</sup>  | 6,87 ± 0,14 <sup>c</sup>   |
|  | LG2  | 9,60 ± 0,27 <sup>a</sup>   | 9,38 ± 0,38 <sup>ab</sup>  | 8,77 ± 0,13 <sup>bc</sup>  | 8,56 ± 0,14 <sup>c</sup>   | 8,57 ± 0,29 <sup>c</sup>   | 8,41 ± 0,29 <sup>c</sup>   | 8,24 ± 0,29 <sup>c</sup>   | 8,16 ± 0,14 <sup>c</sup>   |
|  | Acidez<br>total<br>(mEq kg <sup>-1</sup> ) | UR1                        | 54,94 ± 0,99 <sup>f</sup>  | 55,58 ± 0,22 <sup>f</sup>  | 59,95 ± 0,28 <sup>e</sup>  | 62,88 ± 0,95 <sup>cd</sup> | 64,28 ± 0,32 <sup>bc</sup> | 62,41 ± 0,55 <sup>d</sup>  | 65,83 ± 0,30 <sup>ab</sup> |
| UR2  |  | 53,10 ± 1,11 <sup>f</sup>  | 58,32 ± 0,48 <sup>c</sup>  | 62,22 ± 0,13 <sup>d</sup>  | 65,64 ± 0,93 <sup>c</sup>  | 69,41 ± 0,14 <sup>b</sup>  | 70,29 ± 0,50 <sup>b</sup>  | 70,48 ± 0,73 <sup>b</sup>  | 72,56 ± 0,60 <sup>a</sup>  |
| UR3  |  | 54,96 ± 0,31 <sup>e</sup>  | 58,93 ± 0,36 <sup>d</sup>  | 66,47 ± 0,48 <sup>c</sup>  | 68,58 ± 0,50 <sup>b</sup>  | 70,84 ± 0,77 <sup>a</sup>  | 70,89 ± 1,43 <sup>a</sup>  | 71,55 ± 0,25 <sup>a</sup>  | 72,03 ± 1,02 <sup>a</sup>  |
| BS1  |  | 53,52 ± 0,26 <sup>c</sup>  | 61,23 ± 0,28 <sup>d</sup>  | 66,62 ± 0,85 <sup>c</sup>  | 67,73 ± 1,07 <sup>bc</sup> | 69,39 ± 1,17 <sup>ab</sup> | 70,19 ± 1,58 <sup>ab</sup> | 70,54 ± 0,43 <sup>a</sup>  | 71,49 ± 0,83 <sup>a</sup>  |
| LG1  |  | 57,38 ± 1,35 <sup>f</sup>  | 68,05 ± 0,29 <sup>c</sup>  | 71,70 ± 0,14 <sup>d</sup>  | 74,30 ± 1,23 <sup>c</sup>  | 76,41 ± 0,26 <sup>bc</sup> | 75,89 ± 0,24 <sup>c</sup>  | 78,52 ± 1,35 <sup>ab</sup> | 79,83 ± 0,60 <sup>a</sup>  |
| LG2  |  | 56,04 ± 1,20 <sup>d</sup>  | 63,86 ± 0,34 <sup>c</sup>  | 64,91 ± 0,40 <sup>c</sup>  | 67,89 ± 0,66 <sup>ab</sup> | 69,56 ± 1,22 <sup>a</sup>  | 67,32 ± 0,29 <sup>b</sup>  | 68,38 ± 1,00 <sup>ab</sup> | 68,31 ± 0,25 <sup>ab</sup> |
| pH   |  | UR1                        | 4,78 ± 0,01 <sup>ab</sup>  | 4,83 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 4,74 ± 0,05 <sup>bc</sup>  | 4,72 ± 0,04 <sup>bc</sup>  | 4,67 ± 0,01 <sup>cd</sup>  | 4,63 ± 0,03 <sup>d</sup>   | 4,61 ± 0,04 <sup>d</sup>   |
|  | UR2  | 4,92 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 4,91 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 4,73 ± 0,01 <sup>b</sup>   | 4,67 ± 0,05 <sup>bc</sup>  | 4,66 ± 0,01 <sup>cd</sup>  | 4,60 ± 0,01 <sup>de</sup>  | 4,54 ± 0,04 <sup>e</sup>   | 4,57 ± 0,01 <sup>e</sup>   |
|  | UR3  | 4,85 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 4,86 ± 0,02 <sup>a</sup>   | 4,72 ± 0,00 <sup>b</sup>   | 4,63 ± 0,02 <sup>c</sup>   | 4,57 ± 0,02 <sup>cd</sup>  | 4,57 ± 0,02 <sup>cd</sup>  | 4,52 ± 0,05 <sup>d</sup>   | 4,62 ± 0,00 <sup>c</sup>   |
|  | BS1  | 4,92 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 4,87 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 4,76 ± 0,02 <sup>b</sup>   | 4,71 ± 0,01 <sup>bc</sup>  | 4,72 ± 0,00 <sup>bc</sup>  | 4,67 ± 0,05 <sup>cd</sup>  | 4,62 ± 0,02 <sup>d</sup>   | 4,65 ± 0,01 <sup>d</sup>   |
|  | LG1  | 5,03 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 4,90 ± 0,00 <sup>b</sup>   | 4,78 ± 0,01 <sup>c</sup>   | 4,78 ± 0,02 <sup>c</sup>   | 4,79 ± 0,02 <sup>c</sup>   | 4,66 ± 0,05 <sup>d</sup>   | 4,68 ± 0,02 <sup>d</sup>   | 4,64 ± 0,00 <sup>d</sup>   |
|  | LG2  | 4,61 ± 0,02 <sup>a</sup>   | 4,62 ± 0,00 <sup>a</sup>   | 4,60 ± 0,04 <sup>a</sup>   | 4,56 ± 0,04 <sup>ab</sup>  | 4,52 ± 0,03 <sup>bc</sup>  | 4,44 ± 0,05 <sup>d</sup>   | 4,44 ± 0,02 <sup>d</sup>   | 4,47 ± 0,01 <sup>cd</sup>  |

**ANEXO E – Umidade, açúcares, condutividade elétrica, acidez, pH, atividade diastásica e 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (continuação)**

| Parâmetro                           | Amostra   | Armazenamento             |                            |                             |                              |                              |                             |                            |                            |
|-------------------------------------|---|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                     |   | 0 meses                   | 4 meses – TA               | 8 meses – TA                | 12 meses – TA                | 16 meses – TA                | 20 meses – TA               | 24 meses – TA              | 4 meses – TC               |
| Frutose<br>(g 100 g <sup>-1</sup> ) | UR1   | 36,22 ± 1,14 <sup>a</sup> | 36,11 ± 0,61 <sup>ab</sup> | 35,79 ± 0,64 <sup>ab</sup>  | 35,38 ± 0,74 <sup>abc</sup>  | 35,24 ± 0,48 <sup>abc</sup>  | 35,17 ± 0,57 <sup>abc</sup> | 34,62 ± 0,81 <sup>bc</sup> | 34,28 ± 0,36 <sup>c</sup>  |
|                                     | UR2   | 34,85 ± 0,79 <sup>a</sup> | 34,67 ± 0,64 <sup>a</sup>  | 34,33 ± 0,45 <sup>ab</sup>  | 34,17 ± 0,40 <sup>abc</sup>  | 33,92 ± 0,47 <sup>abc</sup>  | 33,40 ± 0,55 <sup>bcd</sup> | 33,07 ± 0,59 <sup>cd</sup> | 32,44 ± 0,69 <sup>d</sup>  |
|                                     | UR3   | 34,57 ± 0,43 <sup>a</sup> | 34,43 ± 0,74 <sup>a</sup>  | 34,25 ± 0,94 <sup>a</sup>   | 34,06 ± 0,95 <sup>a</sup>    | 33,81 ± 0,36 <sup>ab</sup>   | 33,44 ± 0,57 <sup>ab</sup>  | 33,13 ± 0,69 <sup>ab</sup> | 32,39 ± 0,68 <sup>b</sup>  |
|                                     | BS1   | 37,89 ± 0,57 <sup>a</sup> | 37,56 ± 0,54 <sup>ab</sup> | 37,31 ± 0,40 <sup>ab</sup>  | 36,99 ± 0,62 <sup>abc</sup>  | 36,76 ± 0,60 <sup>abc</sup>  | 36,25 ± 0,80 <sup>bcd</sup> | 35,80 ± 0,48 <sup>cd</sup> | 35,02 ± 0,38 <sup>d</sup>  |
|                                     | LG1   | 37,65 ± 0,56 <sup>a</sup> | 37,42 ± 0,70 <sup>ab</sup> | 37,24 ± 0,68 <sup>ab</sup>  | 36,86 ± 0,56 <sup>ab</sup>   | 36,44 ± 0,32 <sup>ab</sup>   | 36,14 ± 0,94 <sup>abc</sup> | 35,94 ± 0,55 <sup>bc</sup> | 34,63 ± 0,71 <sup>c</sup>  |
|                                     | LG2   | 36,86 ± 0,77 <sup>a</sup> | 36,51 ± 0,67 <sup>ab</sup> | 36,25 ± 0,88 <sup>abc</sup> | 35,94 ± 0,63 <sup>abc</sup>  | 35,51 ± 0,44 <sup>abcd</sup> | 35,20 ± 0,61 <sup>bcd</sup> | 34,97 ± 0,46 <sup>cd</sup> | 34,11 ± 0,84 <sup>d</sup>  |
|                                     | Glicose<br>(g 100 g <sup>-1</sup> )                                       | UR1                       | 25,82 ± 0,49 <sup>a</sup>  | 25,45 ± 0,31 <sup>ab</sup>  | 25,13 ± 0,39 <sup>abc</sup>  | 24,81 ± 0,50 <sup>abcd</sup> | 24,42 ± 0,65 <sup>bcd</sup> | 24,21 ± 0,40 <sup>cd</sup> | 23,90 ± 0,35 <sup>d</sup>  |
| UR2                                 |   | 23,36 ± 0,17 <sup>a</sup> | 23,19 ± 0,40 <sup>a</sup>  | 23,01 ± 0,52 <sup>ab</sup>  | 22,78 ± 0,41 <sup>abc</sup>  | 22,49 ± 0,26 <sup>abc</sup>  | 22,19 ± 0,46 <sup>bc</sup>  | 21,88 ± 0,71 <sup>c</sup>  | 20,43 ± 0,42 <sup>d</sup>  |
| UR3                                 |   | 24,44 ± 0,26 <sup>a</sup> | 24,22 ± 0,24 <sup>ab</sup> | 23,99 ± 0,35 <sup>abc</sup> | 23,71 ± 0,59 <sup>abc</sup>  | 23,53 ± 0,32 <sup>abc</sup>  | 23,29 ± 0,65 <sup>bc</sup>  | 22,97 ± 0,57 <sup>c</sup>  | 21,65 ± 0,23 <sup>d</sup>  |
| BS1                                 |   | 23,78 ± 0,70 <sup>a</sup> | 23,64 ± 0,19 <sup>ab</sup> | 23,39 ± 0,39 <sup>ab</sup>  | 23,19 ± 0,34 <sup>ab</sup>   | 22,98 ± 0,62 <sup>ab</sup>   | 22,74 ± 0,49 <sup>ab</sup>  | 22,40 ± 0,41 <sup>b</sup>  | 21,13 ± 0,21 <sup>c</sup>  |
| LG1                                 |   | 22,05 ± 0,24 <sup>a</sup> | 21,87 ± 0,42 <sup>a</sup>  | 21,64 ± 0,59 <sup>ab</sup>  | 21,45 ± 0,38 <sup>ab</sup>   | 21,32 ± 0,42 <sup>ab</sup>   | 21,12 ± 0,36 <sup>ab</sup>  | 20,74 ± 0,60 <sup>b</sup>  | 19,95 ± 0,22 <sup>c</sup>  |
| LG2                                 |   | 24,07 ± 0,56 <sup>a</sup> | 23,81 ± 0,26 <sup>ab</sup> | 23,51 ± 0,53 <sup>abc</sup> | 23,20 ± 0,28 <sup>abcd</sup> | 22,98 ± 0,45 <sup>bcd</sup>  | 22,70 ± 0,26 <sup>cd</sup>  | 22,39 ± 0,54 <sup>d</sup>  | 21,46 ± 0,25 <sup>e</sup>  |
| Maltose<br>(g 100 g <sup>-1</sup> ) |   | UR1                       | 3,60 ± 0,10 <sup>d</sup>   | 3,64 ± 0,07 <sup>d</sup>    | 3,67 ± 0,07 <sup>cd</sup>    | 3,70 ± 0,09 <sup>cd</sup>    | 3,73 ± 0,06 <sup>bcd</sup>  | 3,85 ± 0,06 <sup>abc</sup> | 3,93 ± 0,05 <sup>ab</sup>  |
|                                     | UR2   | 3,71 ± 0,04 <sup>b</sup>  | 3,73 ± 0,07 <sup>ab</sup>  | 3,77 ± 0,04 <sup>ab</sup>   | 3,77 ± 0,06 <sup>ab</sup>    | 3,78 ± 0,05 <sup>ab</sup>    | 3,82 ± 0,06 <sup>ab</sup>   | 3,82 ± 0,07 <sup>ab</sup>  | 3,91 ± 0,11 <sup>a</sup>   |
|                                     | UR3   | 3,44 ± 0,06 <sup>d</sup>  | 3,48 ± 0,07 <sup>d</sup>   | 3,53 ± 0,05 <sup>cd</sup>   | 3,54 ± 0,05 <sup>bcd</sup>   | 3,62 ± 0,04 <sup>abcd</sup>  | 3,69 ± 0,04 <sup>abc</sup>  | 3,75 ± 0,08 <sup>ab</sup>  | 3,78 ± 0,07 <sup>a</sup>   |
|                                     | BS1   | 3,25 ± 0,06 <sup>d</sup>  | 3,28 ± 0,01 <sup>cd</sup>  | 3,30 ± 0,05 <sup>bcd</sup>  | 3,34 ± 0,06 <sup>bcd</sup>   | 3,34 ± 0,06 <sup>bcd</sup>   | 3,40 ± 0,04 <sup>abc</sup>  | 3,41 ± 0,11 <sup>ab</sup>  | 3,47 ± 0,05 <sup>a</sup>   |
|                                     | LG1   | 3,57 ± 0,07 <sup>c</sup>  | 3,60 ± 0,05 <sup>bc</sup>  | 3,62 ± 0,04 <sup>abc</sup>  | 3,66 ± 0,04 <sup>abc</sup>   | 3,68 ± 0,08 <sup>abc</sup>   | 3,73 ± 0,05 <sup>abc</sup>  | 3,78 ± 0,03 <sup>ab</sup>  | 3,80 ± 0,05 <sup>a</sup>   |
|                                     | LG2   | 2,51 ± 0,03 <sup>d</sup>  | 2,53 ± 0,05 <sup>cd</sup>  | 2,55 ± 0,04 <sup>cd</sup>   | 2,61 ± 0,04 <sup>bcd</sup>   | 2,63 ± 0,03 <sup>abcd</sup>  | 2,65 ± 0,06 <sup>abc</sup>  | 2,70 ± 0,06 <sup>ab</sup>  | 2,75 ± 0,04 <sup>a</sup>   |
|                                     | Soma<br>dos<br>açúcares<br>quantifi-<br>cados (g<br>100 g <sup>-1</sup> ) | UR1                       | 65,64 ± 1,56 <sup>a</sup>  | 65,20 ± 0,63 <sup>ab</sup>  | 64,59 ± 0,90 <sup>abc</sup>  | 63,89 ± 1,10 <sup>abcd</sup> | 63,40 ± 1,10 <sup>bcd</sup> | 63,23 ± 0,69 <sup>cd</sup> | 62,45 ± 0,71 <sup>de</sup> |
| UR2                                 |   | 61,92 ± 0,87 <sup>a</sup> | 61,59 ± 0,23 <sup>ab</sup> | 61,12 ± 0,27 <sup>ab</sup>  | 60,72 ± 0,78 <sup>abc</sup>  | 60,20 ± 0,55 <sup>bcd</sup>  | 59,41 ± 1,04 <sup>cd</sup>  | 58,77 ± 0,90 <sup>d</sup>  | 56,78 ± 1,17 <sup>e</sup>  |
| UR3                                 |   | 62,45 ± 0,14 <sup>a</sup> | 62,13 ± 0,90 <sup>ab</sup> | 61,77 ± 0,80 <sup>ab</sup>  | 61,31 ± 1,57 <sup>abc</sup>  | 60,96 ± 0,02 <sup>abc</sup>  | 60,43 ± 0,31 <sup>bc</sup>  | 59,84 ± 1,30 <sup>c</sup>  | 57,81 ± 0,61 <sup>d</sup>  |
| BS1                                 |   | 64,92 ± 0,82 <sup>a</sup> | 64,49 ± 0,61 <sup>a</sup>  | 63,99 ± 0,06 <sup>ab</sup>  | 63,52 ± 0,61 <sup>abc</sup>  | 63,07 ± 0,58 <sup>abc</sup>  | 62,39 ± 1,20 <sup>bc</sup>  | 61,61 ± 0,87 <sup>cd</sup> | 59,62 ± 0,64 <sup>d</sup>  |
| LG1                                 |   | 63,26 ± 0,71 <sup>a</sup> | 62,89 ± 0,71 <sup>ab</sup> | 62,49 ± 0,76 <sup>abc</sup> | 61,97 ± 0,86 <sup>abc</sup>  | 61,43 ± 0,29 <sup>abc</sup>  | 60,99 ± 1,11 <sup>bc</sup>  | 60,47 ± 1,04 <sup>c</sup>  | 58,11 ± 0,48 <sup>d</sup>  |
| LG2                                 |   | 63,45 ± 1,31 <sup>a</sup> | 62,85 ± 0,37 <sup>ab</sup> | 62,31 ± 1,01 <sup>abc</sup> | 61,74 ± 0,84 <sup>abcd</sup> | 61,12 ± 0,20 <sup>bcd</sup>  | 60,56 ± 0,67 <sup>cd</sup>  | 60,06 ± 0,91 <sup>d</sup>  | 57,92 ± 1,10 <sup>e</sup>  |
| F+G (g<br>100 g <sup>-1</sup> )     |   | UR1                       | 62,04 ± 1,63 <sup>a</sup>  | 61,56 ± 0,70 <sup>ab</sup>  | 60,92 ± 0,85 <sup>abc</sup>  | 60,19 ± 1,16 <sup>abcd</sup> | 59,67 ± 1,14 <sup>bcd</sup> | 59,38 ± 0,58 <sup>cd</sup> | 58,52 ± 0,73 <sup>de</sup> |
|                                     | UR2   | 58,22 ± 0,85 <sup>a</sup> | 57,86 ± 0,30 <sup>ab</sup> | 57,34 ± 0,28 <sup>ab</sup>  | 56,96 ± 0,72 <sup>abc</sup>  | 56,42 ± 0,60 <sup>bcd</sup>  | 55,59 ± 1,01 <sup>cd</sup>  | 54,95 ± 0,83 <sup>d</sup>  | 52,88 ± 1,10 <sup>e</sup>  |
|                                     | UR3   | 59,01 ± 0,17 <sup>a</sup> | 58,65 ± 0,85 <sup>a</sup>  | 58,24 ± 0,78 <sup>ab</sup>  | 57,77 ± 1,52 <sup>abc</sup>  | 57,34 ± 0,06 <sup>abc</sup>  | 56,74 ± 0,33 <sup>bc</sup>  | 56,09 ± 1,22 <sup>c</sup>  | 54,04 ± 0,68 <sup>d</sup>  |
|                                     | BS1   | 61,67 ± 0,87 <sup>a</sup> | 61,20 ± 0,62 <sup>a</sup>  | 60,69 ± 0,02 <sup>ab</sup>  | 60,18 ± 0,55 <sup>abc</sup>  | 59,73 ± 0,58 <sup>abc</sup>  | 58,98 ± 1,24 <sup>bc</sup>  | 58,20 ± 0,79 <sup>c</sup>  | 56,15 ± 0,58 <sup>d</sup>  |
|                                     | LG1   | 59,70 ± 0,72 <sup>a</sup> | 59,29 ± 0,68 <sup>ab</sup> | 58,88 ± 0,78 <sup>ab</sup>  | 58,31 ± 0,90 <sup>abc</sup>  | 57,76 ± 0,23 <sup>abc</sup>  | 57,26 ± 1,09 <sup>bc</sup>  | 56,68 ± 1,01 <sup>c</sup>  | 54,31 ± 0,53 <sup>d</sup>  |
|                                     | LG2   | 60,94 ± 1,33 <sup>a</sup> | 60,32 ± 0,42 <sup>ab</sup> | 59,76 ± 0,97 <sup>abc</sup> | 59,14 ± 0,81 <sup>abcd</sup> | 58,49 ± 0,18 <sup>bcd</sup>  | 57,91 ± 0,73 <sup>cd</sup>  | 57,36 ± 0,96 <sup>d</sup>  | 55,17 ± 1,08 <sup>e</sup>  |

**ANEXO E – Umidade, açúcares, condutividade elétrica, acidez, pH, atividade diastásica e 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (conclusão)**

| Parâmetro  | Amostra | Armazenamento             |                           |                           |                            |                            |                            |                           |                             |
|--|---------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
|  |         | 0 meses                   | 4 meses – TA              | 8 meses – TA              | 12 meses – TA              | 16 meses – TA              | 20 meses – TA              | 24 meses – TA             | 4 meses – TC                |
| 5-HMF<br>(mg kg <sup>-1</sup> )                          | UR1     | <LD                       | 2,44 ± 0,09 <sup>f</sup>  | 10,94 ± 0,24 <sup>c</sup> | 20,18 ± 0,92 <sup>d</sup>  | 32,27 ± 0,83 <sup>c</sup>  | 44,08 ± 0,50 <sup>b</sup>  | 49,86 ± 2,26 <sup>b</sup> | 404,10 ± 7,96 <sup>a</sup>  |
|  | UR2     | <LD                       | <LQ                       | 5,37 ± 0,13 <sup>e</sup>  | 14,08 ± 0,42 <sup>de</sup> | 25,25 ± 1,12 <sup>cd</sup> | 35,87 ± 1,08 <sup>bc</sup> | 46,11 ± 1,09 <sup>b</sup> | 410,76 ± 19,38 <sup>a</sup> |
|  | UR3     | <LD                       | <LQ                       | 5,22 ± 0,12 <sup>e</sup>  | 11,07 ± 0,47 <sup>de</sup> | 17,97 ± 0,76 <sup>cd</sup> | 29,13 ± 1,03 <sup>bc</sup> | 38,44 ± 0,67 <sup>b</sup> | 318,02 ± 11,81 <sup>a</sup> |
|  | BS1     | <LD                       | <LQ                       | 4,21 ± 0,21 <sup>e</sup>  | 9,18 ± 0,34 <sup>de</sup>  | 14,96 ± 0,41 <sup>cd</sup> | 22,88 ± 0,37 <sup>c</sup>  | 33,52 ± 1,27 <sup>b</sup> | 313,35 ± 7,89 <sup>a</sup>  |
|  | LG1     | <LD                       | <LQ                       | 3,97 ± 0,11 <sup>e</sup>  | 9,02 ± 0,28 <sup>de</sup>  | 16,10 ± 0,70 <sup>d</sup>  | 26,07 ± 0,64 <sup>c</sup>  | 36,12 ± 1,06 <sup>b</sup> | 332,50 ± 8,55 <sup>a</sup>  |
|  | LG2     | <LD                       | 4,35 ± 0,20 <sup>g</sup>  | 13,80 ± 0,39 <sup>f</sup> | 25,57 ± 0,43 <sup>e</sup>  | 37,63 ± 1,34 <sup>d</sup>  | 48,36 ± 1,09 <sup>c</sup>  | 59,51 ± 2,93 <sup>b</sup> | 427,67 ± 5,75 <sup>a</sup>  |
| Atividade<br>diastási-<br>ca<br>(unida-<br>des<br>Göthe) | UR1     | 12,77 ± 0,46 <sup>a</sup> | 12,23 ± 0,33 <sup>a</sup> | 10,84 ± 0,49 <sup>b</sup> | 10,35 ± 0,48 <sup>b</sup>  | 9,20 ± 0,43 <sup>c</sup>   | 8,35 ± 0,38 <sup>c</sup>   | 8,11 ± 0,43 <sup>c</sup>  | 2,65 ± 0,01 <sup>d</sup>    |
|  | UR2     | 19,02 ± 0,96 <sup>a</sup> | 18,83 ± 0,62 <sup>a</sup> | 15,43 ± 0,21 <sup>b</sup> | 15,29 ± 0,76 <sup>b</sup>  | 15,18 ± 0,75 <sup>b</sup>  | 14,54 ± 0,50 <sup>b</sup>  | 11,74 ± 0,69 <sup>c</sup> | 4,14 ± 0,01 <sup>d</sup>    |
|  | UR3     | 11,08 ± 0,49 <sup>a</sup> | 10,26 ± 0,03 <sup>a</sup> | 9,24 ± 0,19 <sup>b</sup>  | 8,65 ± 0,38 <sup>b</sup>   | 8,43 ± 0,27 <sup>bc</sup>  | 7,60 ± 0,39 <sup>cd</sup>  | 7,13 ± 0,35 <sup>d</sup>  | 3,11 ± 0,06 <sup>e</sup>    |
|  | BS1     | 11,34 ± 0,42 <sup>a</sup> | 11,29 ± 0,45 <sup>a</sup> | 10,10 ± 0,21 <sup>b</sup> | 9,65 ± 0,38 <sup>bc</sup>  | 9,08 ± 0,27 <sup>c</sup>   | 7,48 ± 0,16 <sup>d</sup>   | 7,19 ± 0,38 <sup>d</sup>  | 2,89 ± 0,05 <sup>e</sup>    |
|  | LG1     | 16,38 ± 0,79 <sup>a</sup> | 16,42 ± 0,18 <sup>a</sup> | 13,33 ± 0,17 <sup>b</sup> | 12,75 ± 0,52 <sup>bc</sup> | 12,02 ± 0,22 <sup>c</sup>  | 11,79 ± 0,22 <sup>c</sup>  | 10,62 ± 0,41 <sup>d</sup> | 3,87 ± 0,09 <sup>e</sup>    |
|  | LG2     | 14,03 ± 0,35 <sup>a</sup> | 14,47 ± 0,18 <sup>a</sup> | 11,85 ± 0,45 <sup>b</sup> | 11,24 ± 0,52 <sup>b</sup>  | 10,97 ± 0,44 <sup>b</sup>  | 9,02 ± 0,33 <sup>c</sup>   | 8,40 ± 0,32 <sup>c</sup>  | 3,08 ± 0,04 <sup>d</sup>    |
| Conduti-<br>vidade<br>elétrica<br>(mS cm <sup>-1</sup> ) | UR1     | 1,29 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 1,28 ± 0,05 <sup>a</sup>  | 1,33 ± 0,01 <sup>a</sup>  | 1,31 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 1,35 ± 0,00 <sup>a</sup>   | 1,33 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 1,34 ± 0,04 <sup>a</sup>  | 1,35 ± 0,04 <sup>a</sup>    |
|  | UR2     | 1,34 ± 0,04 <sup>ab</sup> | 1,34 ± 0,04 <sup>ab</sup> | 1,35 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 1,28 ± 0,01 <sup>b</sup>   | 1,33 ± 0,01 <sup>ab</sup>  | 1,34 ± 0,01 <sup>ab</sup>  | 1,33 ± 0,02 <sup>ab</sup> | 1,37 ± 0,02 <sup>a</sup>    |
|  | UR3     | 1,44 ± 0,02 <sup>ab</sup> | 1,46 ± 0,01 <sup>ab</sup> | 1,45 ± 0,03 <sup>ab</sup> | 1,43 ± 0,02 <sup>b</sup>   | 1,47 ± 0,02 <sup>ab</sup>  | 1,47 ± 0,00 <sup>ab</sup>  | 1,48 ± 0,01 <sup>ab</sup> | 1,48 ± 0,04 <sup>a</sup>    |
|  | BS1     | 1,33 ± 0,04 <sup>a</sup>  | 1,33 ± 0,03 <sup>a</sup>  | 1,36 ± 0,01 <sup>a</sup>  | 1,33 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 1,38 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 1,35 ± 0,02 <sup>a</sup>   | 1,40 ± 0,03 <sup>a</sup>  | 1,40 ± 0,04 <sup>a</sup>    |
|  | LG1     | 1,47 ± 0,03 <sup>b</sup>  | 1,51 ± 0,01 <sup>ab</sup> | 1,53 ± 0,01 <sup>a</sup>  | 1,47 ± 0,01 <sup>b</sup>   | 1,52 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 1,52 ± 0,02 <sup>a</sup>   | 1,54 ± 0,01 <sup>a</sup>  | 1,55 ± 0,02 <sup>a</sup>    |
|  | LG2     | 1,26 ± 0,01 <sup>a</sup>  | 1,28 ± 0,03 <sup>a</sup>  | 1,26 ± 0,03 <sup>a</sup>  | 1,25 ± 0,02 <sup>a</sup>   | 1,27 ± 0,01 <sup>a</sup>   | 1,27 ± 0,03 <sup>a</sup>   | 1,27 ± 0,00 <sup>a</sup>  | 1,30 ± 0,01 <sup>a</sup>    |

Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; TA – temperatura ambiente; mS – miliSiemens; mEq – miliequivalentes; F + G – soma da frutose mais glicose; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; TC – temperatura controlada de 40 °C; Resultados expressos como média ± desvio padrão;  $n = 3$ ; <sup>a-g</sup> Letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor (2019).

**ANEXO F – Critérios de desejabilidade utilizados para calcular a desejabilidade individual e a desejabilidade global em méis de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham) estocados a temperatura ambiente (continua)**

| Respostas   | Objetivo  | Limite menor – limite maior <sup>a</sup> |                   |                   |                   |                   |                   |
|---|-----------|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|   |           | UR1                                      | UR2               | UR3               | BS1               | LG1               | LG2               |
| K <sup>+</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )                 | Maximizar | 5495,49 – 5614,25                        | 5648,66 – 5796,76 | 6246,92 – 6437,84 | 5702,02 – 5881,42 | 6528,10 – 6599,54 | 5223,56 – 5366,88 |
| Na <sup>+</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )                | Maximizar | 9,13 – 10,26                             | 6,57 – 7,62       | 6,57 – 7,74       | 3,86 – 4,54       | 5,51 – 6,53       | 4,73 – 5,62       |
| Ca <sup>2+</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )               | Maximizar | 26,91 – 36,87                            | 24,48 – 26,80     | 33,60 – 38,72     | 20,58 – 24,28     | 26,28 – 34,80     | 22,38 – 31,46     |
| Mg <sup>2+</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )               | Maximizar | 68,19 – 71,39                            | 64,91 – 66,43     | 67,04 – 69,77     | 64,62 – 66,70     | 79,40 – 82,67     | 68,19 – 72,58     |
| L*  | Maximizar | 20,64 – 25,47                            | 21,32 – 30,45     | 21,50 – 26,56     | 20,92 – 29,78     | 20,47 – 25,66     | 20,59 – 27,50     |
| a*  | Maximizar | 4,33 – 17,80                             | 6,42 – 20,88      | 6,19 – 20,06      | 4,33 – 20,85      | 5,08 – 19,37      | 4,49 – 18,88      |
| b*  | Maximizar | 2,53 – 11,64                             | 3,90 – 20,01      | 3,27 – 15,17      | 2,90 – 18,85      | 3,76 – 14,01      | 2,85 – 15,09      |
| Produtos da reação de Maillard (UA)                   | Minimizar | 0,100 – 0,288                            | 0,065 – 0,245     | 0,081 – 0,245     | 0,094 – 0,241     | 0,091 – 0,290     | 0,096 – 0,237     |
| Apigenina (µg 100 g <sup>-1</sup> )                   | Maximizar | 7,00 – 8,20                              | 4,60 – 5,67       | 5,13 – 6,07       | 22,07 – 31,70     | 28,40 – 46,93     | 34,40 – 45,00     |
| Ácido benzoico (µg 100 g <sup>-1</sup> )              | Maximizar | 318,97 – 415,60                          | 247,20 – 341,47   | 315,07 – 432,07   | 370,40 – 471,93   | 713,50 – 802,13   | 333,80 – 463,40   |
| Ácido cafeico (µg 100 g <sup>-1</sup> )               | Maximizar | 42,27 – 65,07                            | 35,93 – 73,93     | 85,40 – 155,80    | 31,73 – 70,07     | 58,93 – 106,40    | 88,67 – 147,53    |
| Ácido clorogênico (µg 100 g <sup>-1</sup> )           | Maximizar | 56,80 – 66,07                            | 56,33 – 68,13     | 158,33 – 179,07   | 83,33 – 113,07    | 51,73 – 68,33     | 99,67 – 135,73    |
| Crisina (µg 100 g <sup>-1</sup> )                     | Maximizar | <LD                                      | <LD               | <LD               | <LD               | 102,87 – 220,53   | 57,87 – 112,33    |
| Ácido p-cumárico (µg 100 g <sup>-1</sup> )            | Maximizar | 54,80 – 75,33                            | 53,53 – 78,27     | 86,13 – 122,27    | 48,87 – 58,73     | 60,53 – 107,53    | 58,07 – 85,53     |
| Ácido 3,4-dihidroxibenzoico (µg 100 g <sup>-1</sup> ) | Maximizar | 372,53 – 440,20                          | 188,47 – 244,40   | 189,67 – 226,80   | 161,53 – 197,93   | 144,33 – 176,07   | 252,13 – 325,93   |
| Ácido ferúlico (µg 100 g <sup>-1</sup> )              | Maximizar | 59,33 – 80,47                            | 58,50 – 71,87     | 63,17 – 86,80     | 43,50 – 62,07     | 64,83 – 80,80     | 64,17 – 103,67    |
| Galangina (µg 100 g <sup>-1</sup> )                   | Maximizar | <LQ                                      | <LQ               | <LQ               | 17,67 – 22,73     | 28,00 – 38,47     | 31,10 – 39,80     |
| Ácido gálico (µg 100 g <sup>-1</sup> )                | Maximizar | 54,82 – 70,02                            | 41,71 – 64,29     | 47,69 – 65,40     | 50,78 – 69,36     | 38,42 – 57,67     | 56,27 – 78,68     |
| Hesperidina (µg 100 g <sup>-1</sup> )                 | Maximizar | <LD                                      | <LD               | <LD               | <LQ – 3,60        | 4,60 – 9,07       | <LQ – 3,40        |
| Isoramnetina (µg 100 g <sup>-1</sup> )                | Maximizar | 10,20 – 16,20                            | 11,53 – 23,13     | 17,60 – 31,87     | 8,00 – 13,40      | 16,87 – 32,80     | 15,60 – 27,07     |
| Kaempferol (µg 100 g <sup>-1</sup> )                  | Maximizar | 26,50 – 38,27                            | 19,60 – 35,87     | 18,40 – 25,47     | 17,80 – 33,07     | 32,70 – 68,20     | 44,30 – 80,27     |
| Luteolina (µg 100 g <sup>-1</sup> )                   | Maximizar | 12,93 – 19,60                            | 13,40 – 24,20     | 10,13 – 16,07     | 36,40 – 49,27     | 26,13 – 31,93     | 50,90 – 58,93     |

**ANEXO F – Critérios de deseabilidade utilizados para calcular a deseabilidade individual e a deseabilidade global em méis de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham) estocados a temperatura ambiente (conclusão)**

| Respostas   | Objetivo  | Limite menor – limite maior <sup>a</sup> |                  |                  |                  |                  |                  |
|---|-----------|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|   |           | UR1                                      | UR2              | UR3              | BS1              | LG1              | LG2              |
| Naringenina ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )                   | Maximizar | 11,07 – 24,53                            | 6,27 – 12,47     | 5,27 – 8,00      | 6,00 – 12,93     | 31,20 – 75,00    | 16,87 – 40,87    |
| Pinobanksina ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )                  | Maximizar | 12,07 – 25,67                            | 7,87 – 13,93     | 6,87 – 9,27      | 7,40 – 13,73     | 31,40 – 78,07    | 17,87 – 33,87    |
| Pinocembrina ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )                  | Maximizar | <LD                                      | <LD              | <LD              | <LD              | 137,60 – 252,80  | 73,60 – 96,60    |
| Quercetina ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )                    | Maximizar | 19,07 – 34,53                            | 20,47 – 45,40    | 28,33 – 53,93    | 16,87 – 36,00    | 32,40 – 73,60    | 31,13 – 58,87    |
| Rutina/ composto desconhecido ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) | Maximizar | 14,40 – 18,07                            | 13,50 – 21,27    | 18,60 – 27,13    | 12,40 – 27,93    | 36,00 – 83,73    | 28,50 – 45,47    |
| Ácido salicílico ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )              | Maximizar | 189,27 – 234,33                          | 230,93 – 279,00  | 228,40 – 292,53  | 230,27 – 280,27  | 317,73 – 387,20  | 851,47 – 1043,20 |
| Ácido síringico ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )               | Maximizar | 33,33 – 43,83                            | 21,83 – 28,67    | 25,47 – 30,40    | 25,83 – 36,60    | 41,67 – 50,33    | 38,50 – 45,67    |
| FC (mg EAG $100 \text{ g}^{-1}$ )                                   | Maximizar | 115,95 – 212,39                          | 104,30 – 211,29  | 107,93 – 206,67  | 106,32 – 215,25  | 117,06 – 234,04  | 124,73 – 193,14  |
| FRAP ( $\mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$ )                 | Maximizar | 879,53 – 1206,85                         | 744,26 – 1238,26 | 912,91 – 1347,27 | 787,36 – 1382,86 | 915,12 – 1329,66 | 881,76 – 1259,58 |
| DPPH (mg EAA $100 \text{ g}^{-1}$ )                                 | Maximizar | 39,87 – 60,21                            | 32,15 – 55,66    | 42,48 – 61,69    | 41,97 – 61,98    | 42,52 – 65,02    | 37,17 – 57,06    |

Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; 2,2-difenil-1-picrilhidrazila – DPPH, do inglês, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*; FC – capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu; capacidade antioxidante de redução do ferro – FRAP, do inglês, *ferric reducing antioxidant power*; EAA – equivalente a ácido ascórbico; EAG – equivalente a ácido gálico; UA – unidades de absorvância;  $L^*$  – luminosidade;  $a^*$  – valores negativos indicam a intensidade do tom verde e valores positivos indicam a intensidade do tom vermelho;  $b^*$  – valores negativos indicam a intensidade do tom azul e valores positivos indicam a intensidade do tom amarelo; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação.

<sup>a</sup> Referente as maiores e menores médias obtidas para cada uma das respostas, considerando a estocagem a temperatura ambiente (0 – 24 meses).

**Fonte:** Próprio autor (2019).

**ANEXO G – Parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), produtos da reação de Maillard e capacidade antioxidante *in vitro* de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (continua)**

| Parâmetro                           | Amostra | Armazenamento              |                             |                             |                             |                              |                             |                             |                             |
|-------------------------------------|---------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                                     |         | 0 meses                    | 4 meses – TA                | 8 meses – TA                | 12 meses – TA               | 16 meses – TA                | 20 meses – TA               | 24 meses – TA               | 4 meses – TC                |
| $L^*$                               | UR1     | 25,47 ± 0,07 <sup>a</sup>  | 23,74 ± 0,05 <sup>b</sup>   | 22,28 ± 0,01 <sup>c</sup>   | 21,60 ± 0,48 <sup>cd</sup>  | 21,35 ± 0,50 <sup>d</sup>    | 20,77 ± 0,29 <sup>d</sup>   | 20,64 ± 0,46 <sup>d</sup>   | 18,63 ± 0,13 <sup>e</sup>   |
|                                     | UR2     | 30,45 ± 0,09 <sup>a</sup>  | 27,94 ± 0,05 <sup>b</sup>   | 24,78 ± 0,07 <sup>c</sup>   | 24,02 ± 0,72 <sup>c</sup>   | 23,73 ± 0,81 <sup>c</sup>    | 21,93 ± 0,77 <sup>d</sup>   | 21,32 ± 0,81 <sup>d</sup>   | 18,57 ± 0,05 <sup>e</sup>   |
|                                     | UR3     | 26,56 ± 0,07 <sup>a</sup>  | 26,01 ± 0,04 <sup>a</sup>   | 24,18 ± 0,05 <sup>b</sup>   | 22,75 ± 0,18 <sup>c</sup>   | 23,02 ± 0,68 <sup>c</sup>    | 21,50 ± 0,76 <sup>d</sup>   | 21,58 ± 0,48 <sup>d</sup>   | 18,69 ± 0,05 <sup>e</sup>   |
|                                     | BS1     | 29,78 ± 0,13 <sup>a</sup>  | 25,82 ± 0,08 <sup>b</sup>   | 23,66 ± 0,04 <sup>c</sup>   | 22,95 ± 0,46 <sup>cd</sup>  | 21,85 ± 0,53 <sup>de</sup>   | 20,92 ± 0,31 <sup>f</sup>   | 21,26 ± 0,66 <sup>ef</sup>  | 18,71 ± 0,04 <sup>g</sup>   |
|                                     | LG1     | 25,40 ± 0,06 <sup>a</sup>  | 25,66 ± 0,15 <sup>a</sup>   | 23,30 ± 0,03 <sup>b</sup>   | 22,46 ± 0,12 <sup>b</sup>   | 22,72 ± 0,91 <sup>b</sup>    | 20,94 ± 0,61 <sup>c</sup>   | 20,47 ± 0,12 <sup>c</sup>   | 18,68 ± 0,11 <sup>d</sup>   |
|                                     | LG2     | 27,50 ± 0,10 <sup>a</sup>  | 25,56 ± 0,06 <sup>b</sup>   | 22,90 ± 0,13 <sup>c</sup>   | 22,72 ± 0,80 <sup>cd</sup>  | 21,21 ± 0,54 <sup>de</sup>   | 20,93 ± 0,86 <sup>e</sup>   | 20,59 ± 0,16 <sup>c</sup>   | 18,63 ± 0,08 <sup>f</sup>   |
| $a^*$                               | UR1     | 17,80 ± 0,16 <sup>a</sup>  | 17,32 ± 0,06 <sup>b</sup>   | 14,87 ± 0,08 <sup>c</sup>   | 9,60 ± 0,04 <sup>d</sup>    | 8,23 ± 0,17 <sup>e</sup>     | 5,78 ± 0,05 <sup>f</sup>    | 4,33 ± 0,07 <sup>g</sup>    | 0,24 ± 0,01 <sup>h</sup>    |
|                                     | UR2     | 20,79 ± 0,15 <sup>a</sup>  | 20,88 ± 0,09 <sup>a</sup>   | 18,58 ± 0,04 <sup>b</sup>   | 13,72 ± 0,36 <sup>c</sup>   | 13,14 ± 0,41 <sup>c</sup>    | 8,72 ± 0,20 <sup>d</sup>    | 6,42 ± 0,04 <sup>e</sup>    | 0,44 ± 0,02 <sup>f</sup>    |
|                                     | UR3     | 16,59 ± 0,18 <sup>c</sup>  | 20,06 ± 0,02 <sup>a</sup>   | 17,79 ± 0,19 <sup>b</sup>   | 12,70 ± 0,09 <sup>d</sup>   | 11,72 ± 0,18 <sup>e</sup>    | 8,50 ± 0,11 <sup>f</sup>    | 6,19 ± 0,06 <sup>g</sup>    | 1,05 ± 0,03 <sup>h</sup>    |
|                                     | BS1     | 20,85 ± 0,16 <sup>a</sup>  | 19,30 ± 0,06 <sup>b</sup>   | 16,93 ± 0,03 <sup>c</sup>   | 12,46 ± 0,14 <sup>d</sup>   | 10,18 ± 0,23 <sup>e</sup>    | 7,82 ± 0,03 <sup>f</sup>    | 4,33 ± 0,07 <sup>g</sup>    | 1,10 ± 0,04 <sup>h</sup>    |
|                                     | LG1     | 16,47 ± 0,10 <sup>c</sup>  | 19,37 ± 0,07 <sup>a</sup>   | 16,87 ± 0,04 <sup>b</sup>   | 11,81 ± 0,03 <sup>d</sup>   | 9,39 ± 0,27 <sup>e</sup>     | 5,99 ± 0,03 <sup>f</sup>    | 5,08 ± 0,13 <sup>g</sup>    | 0,37 ± 0,01 <sup>h</sup>    |
|                                     | LG2     | 18,70 ± 0,16 <sup>a</sup>  | 18,88 ± 0,12 <sup>a</sup>   | 15,19 ± 0,09 <sup>b</sup>   | 10,95 ± 0,22 <sup>c</sup>   | 7,68 ± 0,18 <sup>d</sup>     | 4,80 ± 0,05 <sup>e</sup>    | 4,49 ± 0,03 <sup>e</sup>    | 0,69 ± 0,02 <sup>f</sup>    |
| $b^*$                               | UR1     | 11,64 ± 0,08 <sup>a</sup>  | 11,05 ± 0,08 <sup>b</sup>   | 8,63 ± 0,10 <sup>c</sup>    | 5,46 ± 0,23 <sup>d</sup>    | 4,34 ± 0,20 <sup>e</sup>     | 3,28 ± 0,12 <sup>f</sup>    | 2,53 ± 0,09 <sup>g</sup>    | 2,03 ± 0,07 <sup>h</sup>    |
|                                     | UR2     | 20,01 ± 0,21 <sup>a</sup>  | 17,95 ± 0,03 <sup>b</sup>   | 12,69 ± 0,01 <sup>c</sup>   | 8,25 ± 0,33 <sup>d</sup>    | 7,28 ± 0,31 <sup>e</sup>     | 4,81 ± 0,17 <sup>f</sup>    | 3,90 ± 0,15 <sup>g</sup>    | 2,23 ± 0,07 <sup>h</sup>    |
|                                     | UR3     | 13,36 ± 0,13 <sup>b</sup>  | 15,17 ± 0,04 <sup>a</sup>   | 11,51 ± 0,07 <sup>c</sup>   | 7,72 ± 0,13 <sup>d</sup>    | 6,49 ± 0,28 <sup>e</sup>     | 4,90 ± 0,17 <sup>f</sup>    | 3,27 ± 0,12 <sup>g</sup>    | 2,41 ± 0,02 <sup>h</sup>    |
|                                     | BS1     | 18,85 ± 0,22 <sup>a</sup>  | 14,51 ± 0,12 <sup>b</sup>   | 10,63 ± 0,02 <sup>c</sup>   | 7,36 ± 0,33 <sup>d</sup>    | 6,00 ± 0,13 <sup>e</sup>     | 4,52 ± 0,20 <sup>f</sup>    | 2,90 ± 0,13 <sup>g</sup>    | 2,26 ± 0,06 <sup>h</sup>    |
|                                     | LG1     | 12,64 ± 0,11 <sup>b</sup>  | 14,01 ± 0,08 <sup>a</sup>   | 10,47 ± 0,04 <sup>c</sup>   | 7,08 ± 0,10 <sup>d</sup>    | 5,32 ± 0,23 <sup>e</sup>     | 3,96 ± 0,09 <sup>f</sup>    | 3,76 ± 0,07 <sup>f</sup>    | 2,30 ± 0,02 <sup>g</sup>    |
|                                     | LG2     | 15,09 ± 0,10 <sup>a</sup>  | 13,75 ± 0,20 <sup>b</sup>   | 9,05 ± 0,29 <sup>c</sup>    | 6,04 ± 0,24 <sup>d</sup>    | 4,59 ± 0,18 <sup>e</sup>     | 3,04 ± 0,07 <sup>f</sup>    | 2,85 ± 0,09 <sup>f</sup>    | 2,04 ± 0,03 <sup>g</sup>    |
| Produtos da reação de Maillard (UA) | UR1     | 0,100 ± 0,004 <sup>f</sup> | 0,128 ± 0,007 <sup>ef</sup> | 0,136 ± 0,009 <sup>e</sup>  | 0,171 ± 0,011 <sup>d</sup>  | 0,181 ± 0,011 <sup>d</sup>   | 0,226 ± 0,009 <sup>c</sup>  | 0,288 ± 0,012 <sup>b</sup>  | 0,624 ± 0,014 <sup>a</sup>  |
|                                     | UR2     | 0,065 ± 0,005 <sup>f</sup> | 0,089 ± 0,004 <sup>ef</sup> | 0,108 ± 0,008 <sup>de</sup> | 0,138 ± 0,008 <sup>d</sup>  | 0,127 ± 0,005 <sup>d</sup>   | 0,208 ± 0,007 <sup>c</sup>  | 0,245 ± 0,010 <sup>b</sup>  | 0,588 ± 0,022 <sup>a</sup>  |
|                                     | UR3     | 0,081 ± 0,007 <sup>f</sup> | 0,102 ± 0,004 <sup>ef</sup> | 0,118 ± 0,005 <sup>e</sup>  | 0,126 ± 0,002 <sup>de</sup> | 0,148 ± 0,008 <sup>d</sup>   | 0,198 ± 0,010 <sup>c</sup>  | 0,245 ± 0,011 <sup>b</sup>  | 0,541 ± 0,006 <sup>a</sup>  |
|                                     | BS1     | 0,094 ± 0,009 <sup>e</sup> | 0,112 ± 0,002 <sup>c</sup>  | 0,121 ± 0,004 <sup>de</sup> | 0,153 ± 0,011 <sup>cd</sup> | 0,145 ± 0,008 <sup>c</sup>   | 0,215 ± 0,012 <sup>b</sup>  | 0,241 ± 0,006 <sup>b</sup>  | 0,494 ± 0,009 <sup>a</sup>  |
|                                     | LG1     | 0,091 ± 0,006 <sup>g</sup> | 0,120 ± 0,006 <sup>f</sup>  | 0,142 ± 0,003 <sup>e</sup>  | 0,170 ± 0,005 <sup>d</sup>  | 0,171 ± 0,004 <sup>d</sup>   | 0,235 ± 0,010 <sup>c</sup>  | 0,290 ± 0,005 <sup>b</sup>  | 0,628 ± 0,009 <sup>a</sup>  |
|                                     | LG2     | 0,096 ± 0,002 <sup>f</sup> | 0,104 ± 0,002 <sup>f</sup>  | 0,124 ± 0,008 <sup>e</sup>  | 0,140 ± 0,003 <sup>d</sup>  | 0,149 ± 0,006 <sup>d</sup>   | 0,187 ± 0,004 <sup>c</sup>  | 0,237 ± 0,001 <sup>b</sup>  | 0,460 ± 0,008 <sup>a</sup>  |
| FC (mg EAG 100 g <sup>-1</sup> )    | UR1     | 115,95 ± 3,69 <sup>f</sup> | 142,73 ± 4,40 <sup>e</sup>  | 162,42 ± 7,10 <sup>de</sup> | 177,18 ± 8,27 <sup>d</sup>  | 184,40 ± 10,15 <sup>cd</sup> | 201,77 ± 5,67 <sup>bc</sup> | 212,39 ± 9,82 <sup>b</sup>  | 363,83 ± 13,84 <sup>a</sup> |
|                                     | UR2     | 104,30 ± 5,19 <sup>f</sup> | 126,36 ± 5,86 <sup>e</sup>  | 157,59 ± 4,65 <sup>d</sup>  | 163,32 ± 1,87 <sup>d</sup>  | 188,83 ± 5,92 <sup>c</sup>   | 208,24 ± 6,27 <sup>b</sup>  | 211,29 ± 9,54 <sup>b</sup>  | 283,20 ± 7,68 <sup>a</sup>  |
|                                     | UR3     | 107,93 ± 2,45 <sup>f</sup> | 127,06 ± 5,99 <sup>e</sup>  | 158,94 ± 4,78 <sup>d</sup>  | 168,24 ± 8,87 <sup>cd</sup> | 177,57 ± 1,72 <sup>c</sup>   | 203,48 ± 7,80 <sup>b</sup>  | 206,67 ± 9,84 <sup>b</sup>  | 318,24 ± 6,53 <sup>a</sup>  |
|                                     | BS1     | 106,32 ± 3,97 <sup>e</sup> | 119,96 ± 1,43 <sup>c</sup>  | 149,14 ± 5,11 <sup>d</sup>  | 157,08 ± 8,01 <sup>d</sup>  | 180,34 ± 9,12 <sup>c</sup>   | 198,19 ± 9,19 <sup>bc</sup> | 215,25 ± 11,42 <sup>b</sup> | 279,49 ± 3,50 <sup>a</sup>  |
|                                     | LG1     | 117,06 ± 2,28 <sup>d</sup> | 123,12 ± 4,41 <sup>d</sup>  | 159,35 ± 7,78 <sup>c</sup>  | 167,55 ± 3,61 <sup>c</sup>  | 174,55 ± 8,10 <sup>c</sup>   | 216,47 ± 11,25 <sup>b</sup> | 234,04 ± 11,42 <sup>b</sup> | 340,57 ± 15,86 <sup>a</sup> |
|                                     | LG2     | 124,73 ± 6,21 <sup>e</sup> | 126,76 ± 6,03 <sup>de</sup> | 136,57 ± 6,71 <sup>de</sup> | 143,76 ± 1,63 <sup>d</sup>  | 173,26 ± 8,82 <sup>c</sup>   | 179,65 ± 2,77 <sup>bc</sup> | 193,14 ± 8,05 <sup>b</sup>  | 324,17 ± 8,31 <sup>a</sup>  |

**ANEXO G – Parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), produtos da reação de Maillard e capacidade antioxidante *in vitro* de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) durante o armazenamento (conclusão)**

| Parâmetro  | Amostra | Armazenamento                   |                                  |                                  |                                   |                                   |                                   |                                  |                                  |
|--|---------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|  |         | 0 meses                         | 4 meses – TA                     | 8 meses – TA                     | 12 meses – TA                     | 16 meses – TA                     | 20 meses – TA                     | 24 meses – TA                    | 4 meses – TC                     |
| FRAP ( $\mu\text{mol Fe}^{+2}$ 100 $\text{g}^{-1}$ ) | UR1     | 879,53 $\pm$ 8,13 <sup>f</sup>  | 889,19 $\pm$ 28,60 <sup>ef</sup> | 943,72 $\pm$ 36,08 <sup>e</sup>  | 1007,13 $\pm$ 25,63 <sup>d</sup>  | 1102,94 $\pm$ 15,52 <sup>c</sup>  | 1199,33 $\pm$ 16,35 <sup>b</sup>  | 1206,85 $\pm$ 14,56 <sup>b</sup> | 2098,79 $\pm$ 13,73 <sup>a</sup> |
|  | UR2     | 744,26 $\pm$ 3,75 <sup>f</sup>  | 819,98 $\pm$ 14,08 <sup>e</sup>  | 910,07 $\pm$ 38,31 <sup>d</sup>  | 973,22 $\pm$ 13,63 <sup>d</sup>   | 1090,71 $\pm$ 8,73 <sup>c</sup>   | 1152,40 $\pm$ 37,00 <sup>c</sup>  | 1238,26 $\pm$ 23,88 <sup>b</sup> | 2058,29 $\pm$ 41,28 <sup>a</sup> |
|  | UR3     | 912,91 $\pm$ 12,51 <sup>e</sup> | 964,36 $\pm$ 26,03 <sup>e</sup>  | 1105,69 $\pm$ 48,52 <sup>d</sup> | 1121,71 $\pm$ 54,06 <sup>d</sup>  | 1172,84 $\pm$ 16,17 <sup>cd</sup> | 1253,85 $\pm$ 0,49 <sup>bc</sup>  | 1347,27 $\pm$ 33,69 <sup>b</sup> | 1997,15 $\pm$ 55,28 <sup>a</sup> |
|  | BS1     | 787,36 $\pm$ 5,49 <sup>f</sup>  | 916,95 $\pm$ 43,12 <sup>e</sup>  | 1027,09 $\pm$ 26,50 <sup>d</sup> | 1061,91 $\pm$ 19,98 <sup>d</sup>  | 1167,25 $\pm$ 15,15 <sup>c</sup>  | 1289,44 $\pm$ 69,00 <sup>b</sup>  | 1382,86 $\pm$ 25,74 <sup>b</sup> | 1984,18 $\pm$ 28,93 <sup>a</sup> |
|  | LG1     | 915,12 $\pm$ 29,00 <sup>d</sup> | 979,18 $\pm$ 20,09 <sup>d</sup>  | 1179,69 $\pm$ 51,46 <sup>c</sup> | 1155,62 $\pm$ 29,02 <sup>c</sup>  | 1219,33 $\pm$ 46,29 <sup>c</sup>  | 1253,58 $\pm$ 40,08 <sup>bc</sup> | 1329,66 $\pm$ 21,06 <sup>b</sup> | 2173,66 $\pm$ 28,30 <sup>a</sup> |
|  | LG2     | 881,76 $\pm$ 11,52 <sup>f</sup> | 916,09 $\pm$ 44,32 <sup>ef</sup> | 965,52 $\pm$ 45,44 <sup>ef</sup> | 1032,50 $\pm$ 15,25 <sup>de</sup> | 1092,78 $\pm$ 6,88 <sup>cd</sup>  | 1197,32 $\pm$ 23,51 <sup>bc</sup> | 1259,58 $\pm$ 37,28 <sup>b</sup> | 1727,23 $\pm$ 84,72 <sup>a</sup> |
| DPPH (mg EAA 100 $\text{g}^{-1}$ )                   | UR1     | 39,87 $\pm$ 0,44 <sup>e</sup>   | 45,92 $\pm$ 0,45 <sup>d</sup>    | 50,77 $\pm$ 2,00 <sup>cd</sup>   | 51,42 $\pm$ 1,28 <sup>c</sup>     | 56,70 $\pm$ 1,04 <sup>b</sup>     | 60,21 $\pm$ 1,64 <sup>b</sup>     | 57,15 $\pm$ 1,64 <sup>b</sup>    | 107,01 $\pm$ 3,62 <sup>a</sup>   |
|  | UR2     | 32,15 $\pm$ 0,33 <sup>f</sup>   | 40,65 $\pm$ 0,32 <sup>e</sup>    | 43,75 $\pm$ 1,43 <sup>d</sup>    | 45,89 $\pm$ 0,93 <sup>d</sup>     | 51,68 $\pm$ 0,38 <sup>c</sup>     | 53,70 $\pm$ 1,77 <sup>bc</sup>    | 55,66 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>    | 106,63 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>   |
|  | UR3     | 42,48 $\pm$ 1,62 <sup>e</sup>   | 50,39 $\pm$ 1,67 <sup>d</sup>    | 51,99 $\pm$ 2,47 <sup>d</sup>    | 54,49 $\pm$ 2,15 <sup>cd</sup>    | 58,56 $\pm$ 0,36 <sup>bc</sup>    | 60,81 $\pm$ 0,90 <sup>b</sup>     | 61,69 $\pm$ 1,49 <sup>b</sup>    | 103,27 $\pm$ 1,81 <sup>a</sup>   |
|  | BS1     | 41,97 $\pm$ 1,58 <sup>d</sup>   | 48,64 $\pm$ 0,47 <sup>c</sup>    | 52,63 $\pm$ 2,65 <sup>c</sup>    | 52,82 $\pm$ 0,55 <sup>c</sup>     | 57,95 $\pm$ 2,46 <sup>b</sup>     | 59,56 $\pm$ 1,77 <sup>b</sup>     | 61,98 $\pm$ 0,85 <sup>b</sup>    | 108,01 $\pm$ 2,12 <sup>a</sup>   |
|  | LG1     | 42,52 $\pm$ 0,75 <sup>f</sup>   | 49,45 $\pm$ 0,62 <sup>e</sup>    | 51,29 $\pm$ 2,47 <sup>de</sup>   | 54,93 $\pm$ 1,49 <sup>d</sup>     | 60,23 $\pm$ 1,29 <sup>c</sup>     | 62,68 $\pm$ 1,12 <sup>bc</sup>    | 65,02 $\pm$ 0,78 <sup>b</sup>    | 117,54 $\pm$ 1,13 <sup>a</sup>   |
|  | LG2     | 37,17 $\pm$ 0,72 <sup>f</sup>   | 42,33 $\pm$ 0,35 <sup>e</sup>    | 45,38 $\pm$ 0,66 <sup>de</sup>   | 47,23 $\pm$ 1,31 <sup>d</sup>     | 52,02 $\pm$ 1,45 <sup>c</sup>     | 55,73 $\pm$ 1,46 <sup>b</sup>     | 57,06 $\pm$ 1,57 <sup>b</sup>    | 92,72 $\pm$ 1,49 <sup>a</sup>    |

Legenda: UR – Urupema; BS – Bocaina do Sul; LG – Lages; 2,2-difenil-1-picrilhidrazila – DPPH, do inglês, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*; FC – capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu; capacidade antioxidante de redução do ferro – FRAP, do inglês, *ferric reducing antioxidant power*; EAA – equivalente a ácido ascórbico; EAG – equivalente a ácido gálico; UA – unidades de absorvância;  $L^*$  – luminosidade;  $a^*$  – valores negativos indicam a intensidade do tom verde e valores positivos indicam a intensidade do tom vermelho;  $b^*$  – valores negativos indicam a intensidade do tom azul e valores positivos indicam a intensidade do tom amarelo; TA – temperatura ambiente; TC – temperatura controlada de 40 °C.

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão;  $n = 3$ ; <sup>a-h</sup> Letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor (2019).