



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS

VICTOR VALENTIM GOMES

**EFEITO DO ARMAZENAMENTO NA BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO* DE
MINERAIS EM MEL DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham)**

FLORIANÓPOLIS/SC

2022

VICTOR VALENTIM GOMES

**EFEITO DO ARMAZENAMENTO NA BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO* DE
MINERAIS EM MEL DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham)**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciências dos Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina de Oliveira Costa

FLORIANÓPOLIS/SC

2022

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

Gomes, Victor

Efeito do armazenamento na bioacessibilidade in vitro de minerais em mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) / Victor Gomes ; orientadora, Ana Carolina de Oliveira Costa, 2022.

80 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Mel de melato de bracatinga. 3. Minerais. 4. Digestão gastrointestinal in vitro. 5. Armazenamento. I. de Oliveira Costa, Ana Carolina. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

VICTOR VALENTIM GOMES

**Efeito do armazenamento na bioacessibilidade *in vitro* de minerais em mel de melato de
bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham)**

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

Prof.(a) Graciele da Silva Campelo Borges, Dr.(a)
Universidade Federal Pelotas

Prof.(a) Severino Matias de Alencar, Dr.(a)
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo

Prof.(a) Isabel Cristina da Silva Haas, Dr.(a)
Instituto Federal de Santa Catarina - Campus Concórdia

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos

Prof.(a) Itaciara Larroza Nunes, Dr.(a)
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos

Prof.(a) Ana Carolina de Oliveira Costa, Dr.(a)
Orientadora

Florianópolis, 31 de março de 2022.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que traça meu caminho com muitas experiências de aprendizado.

À minha família e amigos, por ser a base que impulsiona nossas conquistas.

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 mestrado concedida.

À Professora Dra. Ana Carolina de Oliveira Costa pelos imensuráveis aprendizados, não somente aos relacionados a esta pesquisa, mas também sobre a vida. Sua empatia, profissionalismo e zelo pela educação são admiráveis. Obrigado por contribuir para o meu amadurecimento profissional e pessoal.

À Dra. Silvana Seraglio, por todo suporte dado ao longo de todo esse percurso. Obrigado pelas conversas relacionadas a esta pesquisa e conselhos sobre a vida acadêmica. Você é uma profissional admirável!

Aos colegas do Grupo de Pesquisa em Antioxidantes Naturais do Laboratório de Química de Alimentos da UFSC. Apesar da pandemia ter prejudicado a convivência pessoal, obrigado pela ajuda e acolhimento, mesmo que de forma virtual.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina de Lages e aos apicultores do estado de Santa Catarina.

RESUMO

A coleta pelas abelhas de secreções de partes vivas de plantas ou excreções de insetos sugadores de plantas destina-se à produção de mel de melato. No planalto catarinense, a excreção (melato) produzida por insetos sugadores (cochonilhas) a partir do floema de árvores de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) serve como matéria-prima para abelhas *Apis mellifera* na produção do mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham). Este mel possui características particulares quando comparado aos méis florais, como sabor levemente amargo, baixo teor de açúcares e cor mais escura. Este mel possui propriedades bioativas, que dentre outros constituintes, podem estar relacionadas ao seu alto teor de minerais, quando comparados a méis de outras origens. No entanto, os minerais podem ser ionizados ou complexados durante digestão gastrointestinal ou pelas transformações que podem ocorrer ao longo do armazenamento do mel, afetando, portanto, sua bioacessibilidade. Este estudo avaliou a influência do armazenamento na bioacessibilidade *in vitro* de minerais (potássio, magnésio, cálcio, sódio e manganês) em amostras de mel de melato de bracatinga coletadas em Urupema, Lages e Bocaina do Sul (Santa Catarina, Brasil). Um protocolo estático de digestão gastrointestinal *in vitro* foi aplicado nas amostras armazenadas por 8, 16 e 24 meses em temperatura ambiente e por 4 meses a 40°C. A determinação dos cátions Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ e Mn²⁺, antes e após a digestão *in vitro*, foi realizada por eletroforese capilar com detector de arranjo de diodos. Os resultados obtidos indicaram que antes da digestão *in vitro* o armazenamento não influenciou significativamente as concentrações de potássio e magnésio, mas causou variações no teor de sódio (sem tendências claras) e uma redução nas concentrações de cálcio. As frações bioacessíveis variaram de 67,9 ± 1,9 a 87,1 ± 0,1% para o potássio; 92,0 ± 0,8 a 117,5 ± 0,2% para o magnésio; e de 84,7 ± 5,7 a 147,2 ± 3,4% para o cálcio, demonstrando que a maioria desses constituintes foram solubilizados durante a digestão *in vitro*. O sódio não foi avaliado após a digestão *in vitro* devido à influência das concentrações desse mineral nos fluidos digestivos. O manganês não foi detectado durante todo o estudo. Além disso, o armazenamento influenciou a bioacessibilidade do potássio apenas para o mel de Bocaina do Sul. Dependendo da condição de armazenamento, diferentes comportamentos foram observados na bioacessibilidade do magnésio. A bioacessibilidade do cálcio aumentou após 24 meses de armazenamento em temperatura ambiente e após 4 meses a 40 °C. A presença de outros constituintes do mel de melato de bracatinga pode estar influenciando no aumento ou diminuição da bioacessibilidade dos minerais durante o armazenamento. Assim, é possível sugerir que armazenamento exerce um efeito sobre a bioacessibilidade de minerais do mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham). Até o momento, este é o primeiro estudo que avaliou a influência desse fator na bioacessibilidade de compostos em méis.

Palavras-chave: Mel de melato de bracatinga. Minerais. Digestão gastrointestinal *in vitro*. Armazenamento.

ABSTRACT

The collection by bees of secretions of living parts of plants or excretions of plant-sucking insects is intended for the production of honeydew honey. In the plateau of Santa Catarina, the excretion (honeydew honey) produced by sucking insects (cochineals) from the phloem of bracinga trees (*Mimosa scabrella* Benth) serves as a raw material for *Apis mellifera* bees in the production of bracinga melate honey (*M. scabrella* Benth). This honey has particular characteristics when compared to floral honeys, such as a slightly bitter taste, low sugar content and darker colour. This honey has bioactive properties, which among other constituents, may be related to its high mineral content, when compared to honeys from other sources. However, minerals can be ionized or complexed during gastrointestinal digestion or by transformations that can occur during honey storage, thus affecting its bioaccessibility. This study evaluated the influence of storage on *in vitro* bioaccessibility of minerals (potassium, magnesium, calcium, sodium and manganese) in honey samples of bracinga honeydew honey collected in Urupema, Lages and Bocaína do Sul (Santa Catarina, Brazil). A static *in vitro* gastrointestinal digestive protocol was used on samples stored for 8, 16 and 24 months at room temperature and 4 months at 40°C. The determination of Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ and Mn²⁺ cations, before and after *in vitro* digestion, was performed by capillary electrophoresis with a diode array detector. The results obtained indicated that before *in vitro* digestion the storage did not significantly influence the concentrations of potassium and magnesium, but caused variations in the sodium content (without clear trends) and a reduction in the concentrations of calcium. The bioaccessible fractions ranged from 67.9 ± 1.9 to 87.1 ± 0.1% for potassium; 92.0 ± 0.8 to 117.5 ± 0.2% for magnesium; and 84.7 ± 5.7 to 147.2 ± 3.4% for calcium, demonstrating that most of these constituents were solubilised during *in vitro* digestion. Sodium was not evaluated after *in vitro* digestion due to the influence of sodium concentrations in digestive fluids. Manganese was not detected throughout this study. Furthermore, storage had an impact on the bioaccessibility of potassium only for Bocaína do Sul honey. Depending on the storage condition, different behaviors were observed in the bioaccessibility of magnesium. Calcium bioaccessibility increased after 24 months of storage at room temperature and after 4 months at 40 °C. The presence of other constituents of bracinga honeydew honey may be influencing the increase or decrease in the bioaccessibility of minerals during storage. Thus, it is possible to suggest that storage exerts an effect on the mineral bioaccessibility of bracinga honey (*M. scabrella* Benth) honey. To date, this is the first study that has evaluated the influence of this factor on the bioaccessibility of compounds in honey.

Keywords: Bracinga honeydew honey. Minerals. *In vitro* gastrointestinal digestion. storage.

PREFÁCIO

Um mel muito importante para o setor apícola do Sul do Brasil, valorizado no mercado externo e que acaba de conquistar o selo de Denominação de Origem (DO), é o mel de melato de bracatinga. Desde o ano de 2014, o Grupo de Pesquisa em Antioxidantes Naturais da UFSC (GPAN-UFSC) atua de forma pioneira na avaliação química e bioativa deste mel, contribuindo com o conhecimento sobre suas características. Dentre os diversos resultados encontrados pelo GPAN-UFSC, destacam-se o baixo teor de açúcares, a elevada acidez e conteúdo de ácidos orgânicos alifáticos; e propriedades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória de destaque, devido à presença significativa de compostos bioativos quando comparados aos méis de origem floral. Outra característica marcante do mel de melato de bracatinga é a concentração significativa de minerais encontrada em diversas amostras avaliadas, de diferentes safras e localidades geográficas. Dentre os estudos desenvolvidos pelo GPAN, o trabalho realizado pela Dra. Siluana Katia Tischer Seraglio (doutorado 2016 – 2020) ampliou os conhecimentos relacionados ao mel de melato de bracatinga e colaborou com dados inéditos que envolvem o efeito da digestão *in vitro* sobre minerais, compostos fenólicos e capacidade antioxidante desse produto, a partir de amostras colhidas na safra de 2014; bem como sobre o efeito de diferentes condições de armazenamento sobre a sua composição, utilizando amostras colhidas na safra de 2016. Este importante estudo revelou a influência das condições de armazenamento a que as amostras foram submetidas na concentração de minerais; além da obtenção de informações quanto à bioacessibilidade *in vitro* desses elementos inorgânicos. Isto posto, e, visto que o armazenamento e a digestão *in vitro* causam, de maneira independente, diferentes efeitos em determinados minerais, tornou-se relevante desenvolver um estudo associando esses dois fatores, como forma de explorar novas informações. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes condições de armazenamento na bioacessibilidade de minerais desse mel de características muito particulares. Foram investigadas amostras diferentes a do estudo supracitado, mas colhidas na mesma safra (ano de 2016) e submetidas às mesmas condições de armazenamento (tempos e temperaturas). No entanto, é importante salientar que este trabalho ocorreu em meio à pandemia causada pelo novo coronavírus, sendo este um fator limitante para a realização da parte experimental planejada para compor esta dissertação. Sendo assim, os trabalhos ficaram restritos à aplicação do protocolo de digestão *in vitro* nas amostras avaliadas. Os minerais foram determinados nas amostras não digeridas e para as frações obtidas após a fase gástrica (dados não mostrados) e após a fase duodenal (fração bioacessível). A coleta da fração após a digestão gástrica foi realizada, pois tinha-se como

objetivo avaliar se as diferentes etapas da digestão impactam na concentração dos minerais, porém, a matriz e, principalmente as modificações que ocorreram ao longo do armazenamento das amostras nesta fração, demonstraram efeitos significativos que necessitariam de estudos adicionais para auxiliar na discussão dos resultados. É importante esclarecer também que essas análises complementares estão sendo realizadas, visto os avanços no combate à pandemia e o retorno da UFSC às atividades presenciais (FASE 2). Desta forma, este documento está dividido em dois capítulos. No primeiro, são discutidos, sob à luz da literatura científica, aspectos gerais relacionados (i) ao mel, dando ênfase ao mel de melato de bracatinga; (ii) aos estudos de minerais nesse tipo de matriz alimentar; (iii) a digestão humana e (iv) aos estudos de bioacessibilidade de minerais, dando ênfase aos principais métodos empregados e pesquisas realizadas com diferentes amostras de méis. Em um segundo capítulo, são abordados dados experimentais com relação a influência de diferentes condições de armazenamento (após 8, 16 e 24 meses de armazenamento a temperatura ambiente e após 4 meses a 40 °C) na concentração total livre e na fração bioacessível de cinco minerais (sódio, potássio, cálcio, magnésio e manganês) em amostras de mel de melato de bracatinga. É importante destacar o ineditismo deste trabalho, sendo o primeiro a avaliar a influência da armazenamento na bioacessibilidade de minerais em méis. Nesse contexto, ainda cabe complementar que nenhum outro estudo nesse escopo foi realizado com outros constituintes encontrados em méis, o que também ressalta a relevância desta pesquisa.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 – Produção de mel no Brasil durante os anos de 2010 a 2020.	20
Figura 1.2 – Processo de produção do mel de melato de bracatinga (<i>M. scabrella</i> Bentham).	23
Figura 1.3 – Representação da instrumentação de eletroforese capilar.	33
Figura 1.4 – Representação esquemática do fluxo eletrosmótico (FEO).	34
Figura 1.5 – Representação do perfil do fluxo radial (eletroforese capilar) e do perfil de fluxo gerado por pressão (cromatografia líquida), com seus respectivos picos resultantes.	35
Figura 1.6 – Representação dos modos de detecção direta e indireta aplicados em CE.	36
Figura 1.7 – Trato digestivo humano.	37
Figura 1.8 – Fluxograma de decisão para escolher o modelo de digestão <i>in vitro</i> .	42
Figura 1.9 – Fluxograma genérico de digestão estática <i>in vitro</i> .	43

CAPÍTULO 2

Figura 2.1 – Representação descritiva sobre as condições de armazenamento empregadas nas amostras de mel de melato de bracatinga (<i>M. scabrella</i> Bentham).	53
Figura 2.2 – Procedimento de digestão <i>in vitro</i> empregado no mel de melato de bracatinga (<i>M. scabrella</i> Bentham).	55
Figura 2.3 – Influência do armazenamento na bioacessibilidade de potássio no mel de melato de bracatinga armazenado após 8, 16 e 24 meses a temperatura ambiente e após 4 meses a 40 °C.	60
Figura 2.4 – Influência do armazenamento na bioacessibilidade de magnésio no mel de melato de bracatinga armazenado após 8, 16 e 24 meses em temperatura ambiente e após 4 meses a 40 °C.	62
Figura 2.5 – Influência do armazenamento na bioacessibilidade do cálcio no mel de melato de bracatinga armazenado após de 8, 16 e 24 meses a temperatura ambiente e após 4 meses a 40 °C.	64

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.1 – Limites estabelecidos para parâmetros físico-químicos de identidade e qualidade de méis. 21

Tabela 1.2 – Faixas de concentração de minerais encontrados em méis de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham), outros méis de melato e méis florais de diferentes origens geográficas e fontes botânicas. 27

CAPÍTULO 2

Tabela – 2.1 Concentrações de potássio (mg kg^{-1}) em amostras de mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham) submetidas à diferentes condições de armazenamento. 58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico) (do inglês, <i>2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i>)
BGE	Eletrólito de corrida (do inglês, <i>background electrolyte</i>)
CE	Eletroforese capilar (do inglês, <i>capillary electrophoresis</i>)
DAD	Detector de arranjo de diodos (do inglês, <i>diode array detector</i>)
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila (do inglês, <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>)
DRI	Ingestão Dietética de Referência (do inglês, <i>Dietary Reference Intakes</i>)
Epagri	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
FAASC	Federação das Associações de Apicultores de Santa Catarina
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (do inglês, <i>Food and Agriculture Organization</i>)
FC	Folin-Ciocalteu
FEO	Fluxo eletrosmótico
FRAP	Poder de redução do ferro (do inglês, <i>Ferric Reducing Antioxidante Power</i>)
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, <i>High performance liquid chromatography</i>)
MRPs	Produtos da reação de <i>Maillard</i> (do inglês, <i>Maillard reaction products</i>)
T0	“Tempo zero”
TA	Temperatura ambiente

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	14
OBJETIVOS	17
OBJETIVO GERAL	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
CAPÍTULO 1	
1 MEL	19
1.1 MEL DE MELATO DE BRACATINGA (<i>M. scabrella</i> Bentham)	22
1.2 MINERAIS EM MÉIS: COMPOSIÇÃO, ESTABILIDADE E ANÁLISES	27
1.2.1 Estabilidade de minerais em méis	31
1.2.2 Determinação de minerais em méis por CE	32
2 DIGESTÃO HUMANA	37
3 BIOACESSIBILIDADE	39
3.1 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE <i>IN VITRO</i>	41
3.2 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS EM MÉIS	45
3.3 BIOACESSIBILIDADE DE MINERAIS EM MÉIS: QUAL O ESTADO DA ARTE?	46
CAPÍTULO 2	
1 INTRODUÇÃO	50
2 MATERIAL E MÉTODOS	52
2.1 REAGENTES E SOLUÇÕES	52
2.2 AMOSTRAS	52
2.2.1 Condições de armazenamento	53
2.2.2 Preparo das amostras	54
2.3 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL <i>in vitro</i>	54
2.3.1 Cálculo da fração bioacessível	56
2.4 DETERMINAÇÃO DE MINERAIS POR CE-DAD	56
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	57
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57

3.1 CONTEÚDO DE MINERAIS LIVRES	57
3.2 BIOACESSIBILIDADE	59
3.2.1 Potássio	60
3.2.2 Magnésio	62
3.2.3 Cálcio	64
4 CONCLUSÃO	66
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	67
REFERÊNCIAS	68
APÊNDICE	79
ANEXO	80

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O mel é definido como um alimento natural elaborado por abelhas (*Apis mellifera*), constituído principalmente por açúcares redutores (frutose e glicose) e água, além de outros constituintes encontrados em menores concentrações, como ácidos orgânicos, minerais, aminoácidos, proteínas, enzimas, vitaminas, compostos fenólicos e voláteis. O mel preparado a partir do néctar de flores (mel floral) é amplamente conhecido pela população mundial. No entanto, o interesse pelo mel produzido a partir de secreções de partes vivas de plantas ou excreções de insetos sugadores de planta, denominado mel de melato, tem crescido entre os consumidores desse alimento (BRASIL, 2000; DA SILVA et al., 2016; SERAGLIO et al., 2019).

Um produto de destaque nesse cenário é o mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham), produzido na região sul do Brasil, principalmente no planalto do estado de Santa Catarina (altitudes de 700 a 2000 metros). Este é resultado da coleta pelas abelhas de exsudatos sacarínicos (ou melato) excretados por cochonilhas (*Tachardiella* sp. ou *Stigmatococcus paranaensis* Foldi) que se alimentam da seiva da bracatinga (*M. scabrella* Bentham). Esse fenômeno ocorre bianualmente, correspondendo ao ciclo de vida do inseto parasita, e comumente durante os meses de janeiro a julho, período em que há escassez de néctar e pólen, mas há alta produção de exsudato para uso pelas abelhas. O mel de melato de bracatinga possui características singulares, como cor escura, sabor amargo e resistência à cristalização, sendo apreciado principalmente por consumidores europeus (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; AZEVEDO et al., 2017b; BERGAMO et al., 2019a; SILVA et al., 2022). Devido a notoriedade, este produto obteve selo de Indicação Geográfica (IG) na modalidade Denominação de Origem (DO) (EPAGRI, 2021).

Méis de melato possuem características distintas em comparação a méis florais, como menor teor de monossacarídeos, cor escura e maiores valores de pH, acidez e condutividade elétrica (PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017; SERAGLIO et al., 2019; BERGAMO et al., 2019a; AZEVEDO et al., 2021). Além disso, esses méis apresentam propriedades antioxidante (SERAGLIO et al., 2017; LOVAKOVIĆA et al., 2018), anti-inflamatória (MAJTANOVA et al., 2015; SILVA et al., 2020) e antimicrobiana (MRAČEVIĆA et al., 2020; AZEVEDO et al., 2021) devido à presença de diversos compostos bioativos, como compostos fenólicos, proteínas, aminoácidos e minerais que estão normalmente em concentrações maiores em relação aos méis florais (SERAGLIO et al., 2019; BERGAMO et al., 2019a; AZEVEDO et al., 2021).

Os minerais são componentes minoritários importantes no mel. Seu perfil e concentração em méis dependem dos nutrientes minerais absorvidos do solo pelas plantas utilizadas pelas abelhas para a coleta de néctar ou melato. Normalmente, os minerais potássio, sódio, cálcio, magnésio e manganês estão naturalmente presente em méis e são encontrados em maiores concentrações em méis de melato (SERAGLIO et al., 2019; BERGAMO et al., 2018; ESCUREDO; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ; SEIJO, 2012).

A ingestão de minerais pode contribuir com as possíveis atividades benéficas à saúde relacionadas ao consumo do mel, pois esses elementos participam de reações enzimáticas no organismo e são importantes na regulação metabólica, estrutural e celular do corpo (MILLER; JARVIS; MCBEAN, 2001; FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; GHARIBZAHEDI & AFARI, 2017; CASE; ZUBIETA & DOYLE, 2020). Além disso, alguns estudos relataram uma correlação significativa do conteúdo de minerais com a atividade antioxidante *in vitro* do mel (PERNA et al., 2012; SERAGLIO et al., 2017; NAYIK; DAR & NANDA, 2018), o que reforça o argumento de que os minerais são um grupo importante de compostos bioativos nesse tipo de matriz (PISOSCHI; POP, 2015; YOUNG; WOODSIDE, 2001; SOLAYMAN et al., 2015).

No entanto, antes que os minerais exerçam suas atividades biológicas no organismo humano, eles precisam ser liberados da matriz alimentar ao longo do processo digestivo, estando então disponíveis para absorção (bioacessibilidade) e, quando absorvidos no epitélio intestinal, tornam-se disponíveis para ação nas células e tecidos do organismo (biodisponibilidade). Desta forma, a condução de estudos de digestão *in vitro* são uma importante ferramenta para compreender o comportamento dos minerais durante o processo de digestão gastrointestinal, associados à determinação dos seus teores após a digestão completa (fração bioacessível) ou após diferentes etapas do processo digestivo (ALEGRÍA, GARCIA-LATAS & CILLA, 2015; CARDOSO et al, 2015; ALMINGER et al., 2014; CILLA et al., 2018; DIMA et al.; 2020).

Em méis, os poucos estudos que avaliaram a bioacessibilidade dos seus constituintes minerais demonstraram que estes compostos permanecem com pelo menos 70% de seu conteúdo após a digestão *in vitro* (POHL et al., 2012b; SERAGLIO et al., 2017; BILUCA et al., 2017; SERAGLIO et al., 2021c). Além disso, a depender do mineral, as diferentes fases da digestão (fase gástrica e duodenal) podem promover um aumento da concentração de minerais, conforme observado previamente para méis de melato de bracinga (SERAGLIO et al., 2017).

Desta forma, considerando as interações entre o alimento e o processo digestivo, a matriz alimentar ao qual o mineral está associado também causa efeito na sua bioacessibilidade.

Essa influência inclui fatores intrínsecos (como as interações entre os componentes da matriz) e extrínsecos, como as mudanças que podem ocorrer durante o armazenamento do alimento (ROUSSEAU et al., 2020a). Nesse sentido, um estudo publicado recentemente determinou que a concentração de minerais em méis de melato de bracinga pode variar ao longo do armazenamento (SERAGLIO et al., 2021b). Sendo assim, as condições de armazenamento do mel podem exercer influência na bioacessibilidade dos elementos minerais, sendo uma hipótese ainda não explorada.

Diante disso, este trabalho justifica-se pela demanda por estudos que elucidem a bioacessibilidade dos minerais presentes em méis, uma vez que dados que tratem do impacto da digestão *in vitro* na concentração de minerais no mel ainda são escassos. Além disso, tendo em vista que as transformações que esta matriz sofre ao longo do armazenamento exercem uma possível influência na liberação desses constituintes bioativos, investigar o efeito do armazenamento na bioacessibilidade de minerais em méis demonstra relevância, uma vez que, até o presente momento, a literatura científica não possui dados relacionados a este tema.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do armazenamento na bioacessibilidade *in vitro* de minerais em amostras de mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham) do planalto do estado de Santa Catarina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o teor dos minerais sódio potássio, cálcio, magnésio e manganês em amostras de mel de melato de bracatinga dos municípios de Bocaina do Sul, Lages e Urupema por eletroforese capilar com detector de arranjo de diodos (CE-DAD, do inglês, *capillary electrophoresis with diode-array detector*);
- Investigar o impacto do armazenamento após 8, 16 e 24 meses em temperatura ambiente ($23,0 \pm 2,1$ °C) e após 4 meses a temperatura controlada de 40 °C, no teor de minerais em amostras de mel de melato de bracatinga colhidos em diferentes regiões do estado de Santa Catarina (Bocaina do Sul, Lages e Urupema);
- Avaliar o efeito do armazenamento após 8, 16 e 24 meses em temperatura ambiente ($23,0 \pm 2,1$ °C) e após 4 meses em temperatura controlada de 40 °C, na bioacessibilidade de minerais em amostras de mel de melato de bracatinga dos municípios de Bocaina do Sul, Lages e Urupema.

Capítulo 1 – Revisão bibliográfica

1 MEL

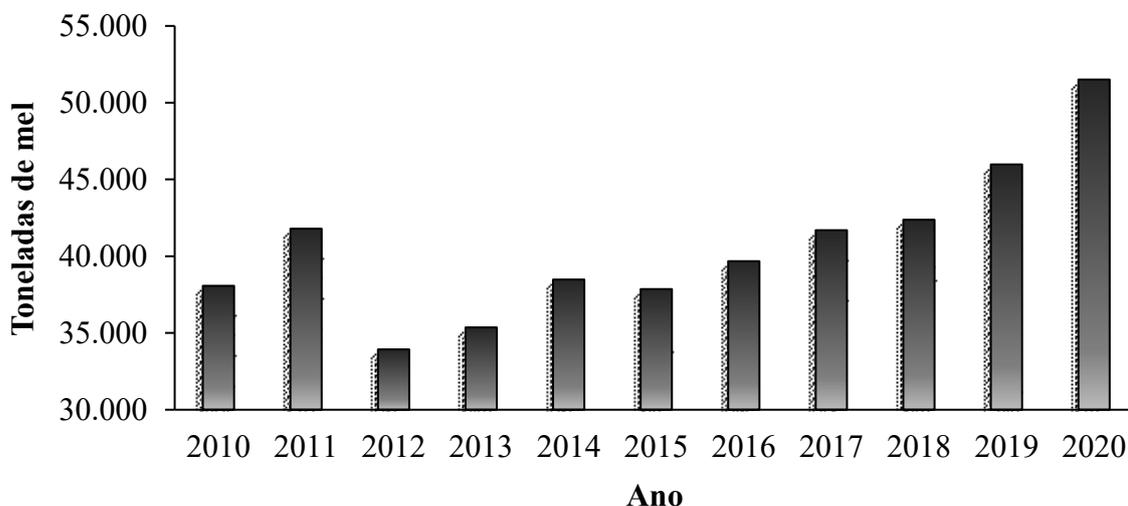
O mel é um alimento natural produzido por abelhas, principalmente da espécie *Apis mellifera* a partir da coleta do néctar de flores (originando o mel floral); ou de exsudatos sacarínicos produzidos por plantas ou por insetos que se alimentam destas (originando o mel de melato). Após a coleta, as abelhas transformam a matéria-prima com substâncias próprias (como enzimas) e depositam em favos da colmeia para armazenamento e maturação do mel (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; GOMES et al., 2017; RIZELIO et al., 2020).

O mel é uma matriz alimentar complexa, constituída majoritariamente pelos monossacarídeos glicose e frutose (65-80%) e água (15-20%), o que caracteriza esta matriz como um líquido doce e viscoso. Sua composição minoritária contém diversos grupos de substâncias, como ácidos orgânicos, minerais, vitaminas, enzimas, compostos fenólicos, carotenoides, lipídeos, compostos aromáticos, aminoácidos, entre outros. Tal composição pode ser influenciada, por exemplo, pela origem botânica, presença de insetos sugadores de planta, condições edafoclimáticas, período de maturação e manejo apícola (DA SILVA et al., 2016; SERAGLIO et al., 2019).

Com a presença dessas substâncias, propriedades bioativas são atribuídas ao mel, como a ação anti-inflamatória (BILUCA et al., 2020; SILVA et al., 2020), antimicrobiana (ESTEVINHO et al., 2008; ANAND et al., 2019; AZEVEDO et al., 2021), antitumoral (AFRIN et al., 2018; MARTINOTTI et al., 2020), antiviral (SHAHZAD & COHRS, 2012; AL-HATAMLEH et al., 2020), cicatrizante (EL-KASED et al., 2017; FEBRIYENTI et al., 2019) e antioxidante (WESOŁOWSKA & DŽUGAN, 2017; SERAGLIO et al., 2017; GÜL & PEHLIVAN, 2018; DŽUGAN et al., 2020). O uso do mel para fins medicinais é um hábito de consumo entre populações pelo mundo todo, sendo este um fator que pode atrair consumidores e, conseqüentemente, possibilitar a procura por este produto no mercado (NETO, PAIVA & NOVAIS, 2020).

Segundo dados mais recentes da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, do inglês, *Food and Agriculture Organization*), foram produzidos no ano de 2020 cerca de 1,8 milhão de toneladas de mel no mundo, o que representou um crescimento em torno de 20% em comparação ao ano de 2010 (FAO, 2019). Esse mesmo comportamento pode ser observado no setor melífero brasileiro, como apresentado na Figura 1.1.

Figura 1.1 – Produção de mel no Brasil durante os anos de 2010 a 2020.



Fonte: IBGE (2021).

Como pode ser observado na Figura 1.1, até o ano de 2014, a produção de mel no país apresentava expressiva variação, especialmente entre os anos de 2011 e 2012, onde registrou um decréscimo de 7.861 toneladas na produção deste alimento, em decorrência da seca na região nordeste do país, o que ocasionou uma queda na produção do mel e perda de enxames (VIDAL, 2013). Em contrapartida, a partir do ano de 2015, nota-se um aumento gradativo, alcançando na safra de 2020 a marca de 51.507 toneladas de mel, a maior registrada desde o ano de 2010 (IBGE, 2021). Esse cenário é favorecido pelas condições climáticas e diversidade vegetal (SANTA CATARINA, 2019), como também pelo fortalecimento do setor apícola através de cooperativas e associações e do aprimoramento técnico por meio do suporte de empresas e centros de pesquisa públicos. Além disso, a certificação de qualidade do mel produzido no país contribui fortemente para o aumento da sua demanda no mercado nacional e internacional (PAULA et al., 2016; KLOSOWSKI; KLOSOWSKI & BONETTI, 2020).

Durante os anos de 2016 e 2020, as exportações aumentaram de 24.201 toneladas para 45.728 toneladas, o que representou um aumento de aproximadamente 89%. Os Estados Unidos foi o principal destino do mel brasileiro, ao importar 80% entre os anos de 2016 e 2020, seguido pela Alemanha, Canadá, Bélgica e Reino Unido, que compraram ao todo 14% da produção de mel nestas safras. A venda do mel para o mercado externo arrecadou em 2020 cerca de US\$ 98,6 milhões, sendo o estado de Santa Catarina o principal exportador com 28% do total de vendas (ABEMEL, 2021; AGROSTAT, 2021).

O estado de Santa Catarina ocupa o 5º lugar em produção de mel, com 9,9% do total produzido no país. O êxito na exportação deve-se à qualidade do produto, que é favorecido

pelas condições edafoclimáticas, diversidade da flora apícola e um prestigiado serviço técnico de extensão rural, organizado e associativo, que contribui para o fortalecimento da apicultura no estado (ABEMEL, 2021; FREITAS, 2011). Além desses fatores, é no território catarinense que predomina a produção do mel de melato de bracinga, que possui alta aceitação no mercado externo, com quase toda sua produção exportada, sobretudo para países europeus (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014). Todavia, vale ressaltar que dados oficiais com informações sobre a produção e exportação exclusivamente do mel de melato de bracinga ainda são inexistentes.

Com a valorização do mel brasileiro no mercado externo, é importante que se estabeleça a identidade e qualidade desse produto para o consumo humano, por meio de normas de padronização (DA SILVA et al., 2016; FEÁS et al., 2010). Nesse contexto, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento regulamenta a identidade e qualidade do mel através da Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Este documento estabelece a definição, classificação, composição e requisitos, condições gerais de higiene, características físico-químicas e sensoriais, amostragem e rotulagem para méis florais e de melato (BRASIL, 2000).

Com relação às características físico-químicas, o regulamento estabelece exigências referentes à maturidade (açúcares redutores e umidade), pureza (sólidos insolúveis em água, minerais e pólen) e deterioração (fermentação, acidez, atividade diastásica e 5-hidroximetilfurfural). O mel não pode apresentar indícios de fermentação e é naturalmente esperado que este contenha pólen (BRASIL, 2000). Os demais parâmetros possuem um valor máximo ou mínimo estabelecido, os quais são apresentados na Tabela 1.1, juntamente com os requisitos considerados por algumas organizações internacionais.

Tabela 1.1 – Limites estabelecidos para parâmetros físico-químicos de identidade e qualidade de méis. (Continua)

Parâmetro	Tipo de mel	Brasil (2000)	CODEX Alimentarius Commission (2001)	European Commission (2002)
Açúcares redutores (g 100 g ⁻¹)	Floral	mín. 65	mín. 60	mín. 60
	Melato	mín. 60	mín. 45	mín. 45
Umidade (g 100 g ⁻¹)	Floral/melato	máx. 20	máx. 20	máx. 20
Sacarose (g 100 g ⁻¹)	Floral	máx. 6	máx. 5	máx. 5
	Melato	máx. 15	máx. 5	máx. 5
Sólidos insolúveis em água (g 100 g ⁻¹)	Floral/melato	máx. 0,1	máx. 0,1	máx. 0,1
Minerais (Cinzas – g 100 g ⁻¹)	Floral	máx. 0,6	-	-
	Melato	máx. 1,2	-	-

Tabela 1.1 – Limites estabelecidos para parâmetros físico-químicos de identidade e qualidade de méis. (Conclusão)

Parâmetro	Tipo de mel	Brasil (2000)	CODEX <i>Alimentarius</i> <i>Commission (2001)</i>	<i>European</i> <i>Commission</i> <i>(2002)</i>
Condutividade elétrica (mS cm ⁻¹)	Floral	-	máx. 0,8	máx. 0,8
	Melato	-	mín. 0,8	máx. 0,8
Acidez (mEq kg ⁻¹)	Floral/melato	máx. 50	máx. 50	máx. 50
Atividade diastásica (Göthe ou Shade)	Floral/melato	mín. 8 (Göthe)	mín. 8 (Shade)	mín. 8 (Shade)
5-HMF* (mg kg ⁻¹)	Floral/melato	máx. 60	máx. 40 máx. 80**	máx. 40 máx. 80**

Legenda: máx./mín.: valor máximo/mínimo estabelecido; *5-hidroximetilfurfural; **Exclusivamente para méis de regiões tropicais.

Fonte: Brasil (2000); CODEX *Alimentarius Commission* (2001); European Commission (2002).

De acordo com a Tabela 1.1, as características físico-químicas especificadas pelos órgãos regulamentadores levam em consideração principalmente a origem do mel (floral e de melato), estabelecendo valores distintos para açúcares redutores, sacarose, condutividade elétrica e minerais. Essas discriminações estão relacionadas com as diferentes fontes utilizadas pelas abelhas para a produção de cada tipo de mel (néctar e exsudato) (BRASIL, 2000; BERGAMO et al., 2018; SILVA, 2020).

1.1 MEL DE MELATO DE BRACATINGA (*M. scabrella* Bentham)

Nos últimos anos, evidências científicas vêm demonstrando que o mel de melato possui características nutricionais, sensoriais e propriedades bioativas singulares ou até superiores ao mel floral (BERGAMO et al., 2019a; LOVAKOVIĆA et al., 2018; MAJTANOVA et al., 2015; PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017; SERAGLIO et al., 2019; SILVA et al., 2020). O aumento da divulgação de resultados que confirmem essas características, pode ser um fator que contribuiu para que os consumidores de mel tenham cada vez mais interesse em adquirir o mel de melato (SERAGLIO et al., 2019). Atualmente com maior valor comercial agregado, o mel de melato apresenta particularidades que variam de acordo com a região de produção. Desse modo, a planta predominante na área apícola e o tipo de inseto sugador de seiva são os principais fatores para a elaboração de méis de melato com características particulares (WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015). Na região Sul do Brasil, sobretudo no planalto do estado de Santa Catarina e, com menor incidência, em alguns locais no Rio Grande do Sul e Paraná, ocorre a produção do mel de melato de bracatinga (MOREIRA

et al., 2011; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015). A Figura 1.2 demonstra uma representação esquemática do processo de produção do mel de melato de bracatinga.

Figura 1.2 – Processo de produção do mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham).



Fonte: Adaptado de Silva et al. (2022).

De acordo com a Figura 1.2, nos locais de produção ocorre a associação de cochonilhas (um tipo de homóptero) em árvores de bracatinga (*M. scabrella* Bentham), resultando em excreções produzidas por este inseto e que são coletadas por abelhas *Apis mellifera* para a produção do mel de melato de bracatinga (MOREIRA et al., 2011; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015). A produção desse mel ocorre bianualmente (anos pares), período que corresponde ao ciclo de vida da cochonilha e especialmente entre os meses de janeiro e julho, quando a produção do exsudato se intensifica e há menor disponibilidade de néctar e pólen (MARTINS; ORTH; NARDI, 2003; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015; DORTZBACH et al., 2020).

As cochonilhas (*Tachardiella* sp. ou *Stigmacoccus paranaensis* Foldi) são insetos que, ao atingirem a fase adulta, fixam-se até atingir o floema do caule ou ramo do seu hospedeiro, sugam a seiva da planta para sua alimentação e excretam um líquido rico em açúcares (MARTINS; ORTH; NARDI, 2003; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015; DORTZBACH et al., 2020). Em relação à *M. scabrella* Bentham (Fabaceae, Mimosoideae), trata-se de espécie arbórea conhecida como bracatinga, é nativa do

Brasil e predominantemente distribuída desde o norte do Rio Grande do Sul até o Sul do Paraná, localidades que possuem altitudes entre 700 e 2.000 metros e temperaturas predominantemente amenas, que variam de 13 a 21 °C (SOMARRIBA; KASS, 2001; DAHMER et al., 2013; MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014).

O mel de melato de bracatinga recebeu alguns títulos de melhor mel do mundo em eventos promovidos pela Federação Internacional de Associações de Apicultores (APIMODIA, do inglês, *International Federation of Beekeepers' Associations*) (International Apicultural Congress, 2017; MARQUELE-OLIVEIRA, 2017; FONSECA, 2019). A coloração escura e sabor menos doce são características que levaram a uma alta aceitabilidade desse mel por consumidores europeus (FREITAS, 2011; SILVA, 2020). No território nacional, a demanda comercial por esse produto vem crescendo, em decorrência do interesse dos consumidores e dos esforços promovidos pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), pela Federação das Associações de Apicultores de Santa Catarina (FAASC) e de pesquisadores vinculados à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), junto ao setor apícola (DORTZBACH et al., 2018).

Com a notoriedade do produto e a necessidade de atender aos anseios da cadeia produtiva de mel do planalto catarinense (DORTZBACH et al., 2018), a FAASC encaminhou no ano de 2020 ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial, o processo para obtenção do selo de Indicação Geográfica, na modalidade Denominação de Origem, o qual foi concedido em 20 de julho de 2021 (VIANNA et al., 2021; EPAGRI, 2021). Além disso, o suporte técnico-científico oferecido pelo Grupo de Pesquisa em Antioxidantes Naturais da Universidade Federal de Santa Catarina, colaborou com a concessão desse selo, por meio do desenvolvimento de estudos pioneiros sobre a composição, qualidade, identidade e bioatividade de méis de melato de bracatinga. Algumas das informações resultantes dessa pesquisa estão compiladas abaixo.

Com relação às características físico-químicas, Bergamo et al. (2019a) destacaram que méis de melato de bracatinga (coletados em apiários de Santa Catarina) possuem baixo teor de açúcares redutores (54,27 a 63,69 g 100⁻¹, considerando o somatório da concentração de glicose e frutose), elevada acidez (42,45 a 55,66 meq kg⁻¹) e maior condutividade elétrica (1,07 a 1,78 mS cm⁻¹) em comparação às amostras de méis floridas (dos mesmos locais de coleta). Os reduzidos teores de glicose reportados em estudos com méis de melato de bracatinga (20,84 a 32,2 g 100⁻¹) proporcionam um processo de cristalização mais lento (BERGAMO et al., 2019a; SERAGLIO et al., 2019; AZEVEDO et al., 2021). Embora a elevada acidez seja considerada um indício de deterioração (BRASIL, 2000), esta foi considerada uma característica particular

ao mel de melato de bracinga, visto que este apresentou níveis acima da legislação em amostras frescas e de procedência controlada (BERGAMO et al., 2019a; SERAGLIO et al., 2021b; AZEVEDO et al., 2021). A determinação da condutividade elétrica é amplamente considerada para diferenciar méis de melato (condutividade mínima de $0,8 \text{ mS cm}^{-1}$) de méis florais (condutividade máxima de $0,8 \text{ mS cm}^{-1}$), estando fortemente relacionada ao teor total de minerais em méis, fatos estes que foram verificados nos estudos com mel de melato de bracinga (*Codex Alimentarius*, 2001; SERAGLIO et al., 2019; AZEVEDO et al., 2021). Ademais, no estudo de Bergamo et al. (2019b) foi observado que os parâmetros cromáticos permitiram a discriminação entre méis de melato de bracinga e méis florais catarinenses; assim como em outro estudo de Bergamo et al. (2020), no qual foi possível verificar um perfil espectrofotométrico semelhante para diferentes safras (ano de 2014, 2016 e 2018) do mel de melato de bracinga, possibilitando diferenciá-lo de amostras de méis florais de mesma origem geográfica.

Quanto aos compostos minoritários, Azevedo et al. (2017a) reportaram que o mel de melato de bracinga possui uma concentração maior de proteínas ($0,42 \text{ mg g}^{-1}$) do que o mel floral de bracinga ($0,16 \text{ mg g}^{-1}$), enquanto que, no estudo realizado pela mesma autora e colaboradores (AZEVEDO et al. 2017b), os aminoácidos serina, prolina, asparagina, ácido aspártico e ácido glutâmico demonstraram serem possíveis marcadores para discriminar a origem geográfica de méis de melato de bracinga. Os ácidos orgânicos alifáticos foram investigados no estudo de Brugnerotto et al. (2019b), evidenciando que méis de melato de bracinga possuem concentrações superiores (8.062 a $10.730 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) aos méis florais oriundos das mesmas regiões geográficas (4.893 a $9.128 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), sendo o ácido glucônico predominante em ambos. Além disso, no estudo de Seraglio et al. (2021a), foi observado que o perfil e concentração dos ácidos orgânicos alifáticos em méis de melato de bracinga não varia intensamente em função do ano de colheita (safras de 2014, 2016 e 2018), o que promoveu a discriminação deste grupo de méis em relação a méis florais coletados nas mesmas regiões do estado de Santa Catarina por meio da Análise por Componentes Principais. Com relação aos minerais, a soma da concentração de potássio, cálcio, sódio, magnésio e manganês em méis de melato de bracinga (4.218 a 6.764 mg kg^{-1}) supera a de méis florais (1.047 a 3.405 mg kg^{-1}) coletados nos mesmos municípios (BERGAMO et al., 2018). Ainda, Seraglio et al. (2016) e Azevedo et al. (2021), ao investigarem o perfil e concentração de compostos fenólicos em méis de melato de bracinga coletados na safra de 2014, encontraram valores entre $437,3$ e $2.393,0 \mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$, sendo os ácidos benzoico, 3,4-dihidroxibenzoico e salicílico os mais abundantes (AZEVEDO et al., 2021; SERAGLIO et al., 2016). Por outro lado, no trabalho de Silva et al.

(2019), o ácido siríngico e a rutina foram os compostos fenólicos encontrados em maiores concentrações em méis de melato de bracatinga coletados na safra de 2018, variando de 5,2 a 40,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 7,9 a 64,4 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

A estabilidade em relação a alguns parâmetros físico-químicos e composição química do mel de melato de bracatinga foi estudada durante 24 meses de armazenamento à temperatura média de 23 °C e por 4 meses à 40 °C. Observou-se que várias características foram alteradas ao longo da armazenagem prolongada à temperatura ambiente (23 °C) e intensificadas quando na condição de 40 °C. Dentre as variações, pode-se destacar o aumento da acidez livre, dos produtos da reação de *Maillard* (MRPs, do inglês, *Maillard reaction products*) e do teor de 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF), além da diminuição da concentração de ácido glutâmico e do parâmetro cromático *b**. Além disso, o ácido glutárico e a atividade diastásica apresentaram uma diminuição significativa após 4 meses de armazenamento das amostras à 40 °C, evidenciando um potencial uso como indicadores de aquecimento prolongado para esse mel (SERAGLIO, 2020; SERAGLIO et al., 2021b; 2021d).

Algumas propriedades bioativas também foram investigadas no mel de melato de bracatinga por meio de estudos *in vitro*. O potencial antioxidante foi avaliado em amostras coletadas nas safras do ano de 2014 (SERAGLIO et al.; 2017; AZEVEDO et al., 2021) e ano de 2016 (BERGAMO et al., 2019a) por meio do poder de redução do ferro (FRAP, do inglês, *ferric reducing antioxidant power*), pela capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu (FC) e pela atividade de eliminação de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila, do inglês, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Ao compilar os dados obtidos por esses estudos, verificou-se que o mel de melato de bracatinga apresentou potencial antioxidante variando entre 525 a 1.086 $\mu\text{mol Fe}^{2+} 100 \text{ g}^{-1}$ para o ensaio FRAP, 77 a 197 mg GAE 100 g^{-1} para o ensaio de FC e 17 a 54 mg AAE 100 g^{-1} para o ensaio de DPPH. No estudo de Bergamo et al. (2019), foi observado ainda que o valor médio obtido para cada um desses parâmetros foi superior ao encontrado em méis florais coletados nas mesmas regiões geográficas. Ademais, o potencial anti-inflamatório do mel de melato de bracatinga foi demonstrado frente às células de macrófagos RAW 264.7 no trabalho de Silva et al. (2020). Por fim, Azevedo et al. (2021), com o objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano, observaram que cepas bacterianas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*) e Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella Typhimurium*) foram sensíveis ao mel de melato de bracatinga colhidos na safra de 2014 em diferentes municípios do estado de Santa Catarina.

Embora as propriedades bioativas relatadas para os méis florais e méis de melato sejam atribuídas principalmente à presença de compostos fenólicos (SERAGLIO et al., 2019;

MĂRGĂOAN et al., 2021), é importante salientar que outros constituintes desse alimento também podem atuar com possíveis efeitos benéficos à saúde, como os minerais (SOLAYMAN et al., 2015). Em méis de melato de bracatinga, Seraglio et al. (2017) observaram que os minerais cálcio e magnésio apresentaram uma correlação positiva com a atividade de eliminação de radicais DPPH (0,659 e 0,676, respectivamente) e com a capacidade redutora pelo método de FC (0,873 e 0,820, respectivamente), sugerindo que esses elementos podem contribuir com a atividade antioxidante deste mel. Desse modo, estudos que tratem sobre a avaliação de minerais em méis são importantes para ampliar o conhecimento científico acerca do potencial bioativo desse tipo de alimento.

1.2 MINERAIS EM MÉIS: COMPOSIÇÃO, ESTABILIDADE E ANÁLISES

A Tabela 1.2 apresenta as faixas de concentração de minerais reportadas para méis de melato de bracatinga e méis de outras origens (méis de melato e méis florais), a partir de estudos científicos publicados nos últimos 5 anos.

Tabela 1.2 – Faixas de concentração de minerais encontrados em méis de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham), outros méis de melato e méis florais de diferentes origens geográficas e fontes botânicas. (Continua)

Mineral (símbolo químico)	Mel de melato de Bracatinga **	Outros méis de melato ***	Méis florais ****
<i>Concentração em mg kg⁻¹*</i>			
Potássio	5.859-5.416	333-4.159	45,5-10.200
Magnésio	65-108,1	63-195	6,2-316
Sódio	6,3-7,3	5-62,6	2,9-456
Cálcio	30-43	31,9-308	1,7-1.535
Fósforo	-	125-211	36-130
Enxofre	-	87,3	107
Ferro	4,3	1,9-6,4	0,3-8
Zinco	5,2	0,9-4,5	<0,1-7,5
Selênio	<0,1	<0,1	<0,1-0,4
Cobre	3,1	0,5-2,7	nd-2,1
Manganês	nd-3,2	0,7-2,5	<0,1-6,8
Cromo	<0,1	5,8-6,6	<0,1-0,3
Molibdênio	-	-	<0,1
Cobalto	<0,1	<0,1-21,5	<0,1
Níquel	-	<0,1-0,7	<0,1-0,4
<i>Concentração em µg kg⁻¹*</i>			
Alumínio	999,8	<10-3.500	69,7-23.780
Arsênio	1,9	<10	<10-690

Tabela 1.2 – Faixas de concentração de minerais encontrados em méis de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham), outros méis de melato e méis florais de diversas origens geográficas e fontes botânicas. (Conclusão)

Mineral (símbolo químico)	Mel de melato de Bracatinga **	Outros méis de melato ***	Méis florais ****
<i>Concentração em µg kg⁻¹*</i>			
Bário	262,9	-	10-4.010
Boro	-	3.500-8.400	580-9.700
Cádmio	-	<10-38,2	<10
Césio	135,8	-	-
Mercúrio	-	<10	19-60
Lítio	-	<10	<10
Chumbo	7,5	<10-600	<10-240
Rubídio	28,1	-	890-4.900
Antimônio	0,3	<10-500	<10-640
Silício	-	<10-32.200	1.200-27.770
Samário	124,0	-	-
Estanho	-	<10-11	<10-110
Tálio	36,2	-	10-20
Titânio	-	-	58-70
Origens geográficas	Região sul do Brasil	Chipre, Croácia, Egito, Eslováquia, Espanha, Grécia, Hungria, Marrocos, Polônia e Sérvia	Arábia Saudita, Austrália, Brasil, Canadá, China, Chipre, Coréia do Sul, Egito, Espanha, Estados Unidos, Grécia, Hungria, Índia, Indonésia, Inglaterra, Irã, Itália, Japão, Macedônia, Malásia, Marrocos Nova Zelândia, Quênia, Romênia, Sérvia e Turquia
Fontes botânicas	<i>M. scabrella</i> Bentham	Abeto, Carvalho, pinheiro, <i>Quercus</i> spp. e ni	Abacaxi, abeto, acácia, <i>Citrus</i> ssp., <i>Euphorbia</i> ssp., flor de laranjeira, girassol, manuka, multifloral, pinheiro, prado, tomilho, trigo-sarraceno e ni

Legenda: -: não avaliado; ni: origem geográfica ou fonte botânica não informada; *Foram considerados os valores médios das amostras avaliadas em cada estudo. Se um mesmo mineral foi investigado em mais de um trabalho, o valor máximo e mínimo da média amostral entre os estudos foi considerado. Dados compilados de **Seraglio et al. (2017), Bergamo et al. (2018), Seraglio et al. (2021b), Silva et al. (2021b) e Azevedo et al. (2021); *** Lovaković et al. (2018), Karabagias et al. (2019), Rodríguez-Flores et al. (2019), Sajtos et al. (2019), Sajtos et al. (2019), Spirić et al. (2019), Mračević et al. (2020), Šedík et al. (2020) e Winiarska-Mieczan et al. (2021); **** Kek et al. (2017), Kiliç-Altun et al. (2017), Louppis et al. (2017), Zhou et al. (2018), Conti et al. (2018), Deng et al. (2018), Bettar et al. (2019), Sakač et al. (2019), Dourado et al. (2019), Karabagias et al. (2019) e Perna et al. (2021).

Fonte: Próprio autor (2022).

Diversos minerais foram quantificados em diferentes tipos de mel, como pode ser observado na Tabela 1.2. O potássio é o elemento mais abundante e corresponde a mais de 50% do conteúdo total de minerais encontrados no mel. Cálcio, magnésio, sódio, fósforo, alumínio e boro também são comumente encontrados, mas em concentrações menores (em torno de 1% do conteúdo mineral total). Vale ressaltar também que a presença de alguns metais pesados (Pb, Cd, Hg, Mn, Zn) ou tóxicos (Cr e As) desempenham um importante papel na determinação da qualidade do mel, pois podem indicar, por exemplo, que o produto sofreu contaminação ambiental ou procedimentos incorretos durante o processamento e/ou armazenamento (SOLAYMAN et al., 2015; DA SILVA et al., 2016; SERAGLIO et al., 2019).

Os minerais estão fortemente relacionados com o perfil e concentração desses elementos presentes no solo e nas plantas aproveitadas pelas abelhas para coleta de néctar, melato ou pólen (SERAGLIO et al., 2019; DA SILVA et al., 2016). Dessa maneira, esses compostos são bons indicadores da origem geográfica e/ou botânica do mel (ZHOU et al., 2018; KARABAGIAS et al., 2019). Além disso, conforme pode ser verificado na Tabela 1.2, embora méis florais e méis de melato apresentem um perfil de minerais semelhante, ao comparar as faixas de concentração para cada elemento, é possível observar que méis florais possuem intervalos maiores em comparação aos méis de melato. Essa diferença é resultado da maior diversidade de néctares encontrados pelas abelhas para a produção do mel floral em relação aos exsudatos para a produção do mel de melato, resultando na produção de méis florais claros a escuros, o qual é reflexo direto do seu conteúdo de minerais; associado ainda a um maior número de estudos conduzidos em méis florais quando comparados a méis de melato (SERAGLIO et al., 2019).

No entanto, se for considerada a mesma região geográfica, méis de melato podem apresentar concentrações de minerais superiores em comparação aos méis florais, especialmente comparando com méis florais claros. Lovaković et al. (2018), ao analisarem a porcentagem do conteúdo elementar total de méis da região costeira da Croácia, observaram que os valores encontrados para o mel de melato de pinheiro (0,317%) e o mel de melato de carvalho (0,434%) foram superiores aos reportados em méis florais de morangueiro (0,264%), acácia (0,027%), hera (0,105%), *Parkinsonia aculeata* (0,174%), hortelã (0,138%), girassol (0,162%) e tomilho (0,076%). Em méis colhidos na Sérvia, Spirić et al. (2019) verificaram que méis de melato (de origem botânica desconhecida) apresentaram concentrações superiores para diversos minerais (K, Ca, Mg, Na, Ni, Mn, Zn, Fe, Cu, Pb, Cd e As) em relação a méis florais de acácia, tilia e multifloral. Bergamo et al. (2018) observaram que a concentração de potássio (5.416 mg kg⁻¹) e magnésio (65,0 mg kg⁻¹) em méis de melato de bracinga foram maiores do

que em méis florais de diferentes origens botânicas (1.951 mg kg⁻¹ de K e 30,0 mg kg⁻¹ de Mg), sendo ambos colhidos na região serrana do estado de Santa Catarina. Ainda, por meio dessas diferenças, juntamente com dados obtidos de sódio, cálcio e magnésio, foi possível desenvolver um modelo de classificação a fim de reconhecer possíveis fraudes pela adição de diferentes proporções de méis florais e com isso verificar a autenticidade do mel de melato catarinense (BERGAMO et al., 2018).

Méis com maiores concentrações de minerais também podem apresentar atividade antioxidante mais elevada. Apesar dessa contribuição ainda não ter sido elucidada, correlações estatisticamente significativas foram obtidas nos estudos de Perna et al. (2012), Nayik, Dar e Nanda (2018) e Seraglio et al. (2017) para diferentes radicais químicos utilizados em ensaios *in vitro* (DPPH, FRAP, FC e ABTS – 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico), do inglês, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)). Além disso, a correlação dos minerais com outras substâncias bioativas, como os compostos fenólicos, também oferece subsídios para inferir que esses componentes são um importante grupo de compostos bioativos no mel (FERREIRA et al., 2009; PERNA et al., 2012; ESCUREDO et al., 2013). Íons metálicos podem atuar como doadores de elétrons e serem estabilizados por estruturas de polifenóis (CASTILHO et al., 2018; SANT'ANA et al., 2012). A formação de complexos entre íons metálicos e compostos fenólicos pode apresentar maior potencial de eliminação de radicais livres do que o composto fenólico em sua forma livre (CASTILHO et al., 2018; SAMSONOWICZ, REGULSKA & KALINOWSKA, 2017). Ghosh et al. (2015) demonstraram que o complexo magnésio-quercetina possui um potencial antioxidante maior do que o flavonoide não complexado. Stelmach, Pohl e Szymczycha-Madeja (2015), ao analisarem infusões de café verde, observaram que a atividade antioxidante *in vitro* pelo método de DPPH foi mais eficiente quando as concentrações de cálcio e compostos fenólicos foram maiores. Em méis, Pohl e Sergiel (2010) e Sergiel e Pohl (2010), ao estudarem diferentes frações de minerais (catiônica, hidrofóbica e residual) através da extração em fase sólida e detecção por espectrometria de absorção atômica em chama, verificaram que uma parcela minoritária de minerais podem estar complexados (fração hidrofóbica e/ou residual) com outros componentes da matriz (como os polifenóis, ácidos orgânicos, proteínas, aminoácidos, vitaminas e compostos aromáticos), porém as frações catiônicas são predominantes. Desta forma, é possível que a interação dos minerais com outros componentes da matriz possa exercer uma possível influência no potencial antioxidante do mel.

Além disso, essas interações também provocam o interesse em conhecer sobre a estabilidade dos minerais em méis, uma vez que este alimento pode estar sujeito a mudanças na

sua composição, dependendo das condições em que foi submetido.

1.2.1 Estabilidade de minerais em méis

Fatores como calor, luz, mudanças de pH, agentes oxidantes, processamento e tempo de armazenamento podem causar variações nas propriedades físico-químicas e composição do mel (teor açúcares, compostos fenólicos e voláteis, por exemplo) (DA SILVA et al., 2020a; DA SILVA et al., 2020b; BRAGHINI et al., 2020; SERAGLIO et al., 2021b; FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Em relação ao conteúdo de minerais, entretanto, as informações que tratam da influência desses fatores são consideravelmente restritas.

Até o presente momento, Seraglio (2020) e Seraglio et al. (2021b) são as únicas publicações contendo dados sobre a influência do armazenamento do mel sobre a estabilidade de minerais. Nessas pesquisas, as concentrações de K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^{2+} e Mn^{2+} foram monitorados em amostras de mel de melato de bracatinga ao longo de 24 meses (incluindo 8 e 16 meses) de armazenamento à temperatura ambiente (média de 23 °C) e após 4 meses de armazenamento à 40 °C. Apesar do conteúdo total de minerais ter se apresentado relativamente estável, ao analisá-los individualmente, observou-se que (i) ao longo de todo o estudo, o manganês não foi detectado nas amostras; (ii) os minerais potássio e magnésio apresentaram estabilidade; (iii) o teor de sódio apresentou variações sem demonstrar tendências claras para as condições de armazenamento aplicadas; (iv) a concentração de cálcio reduziu até 19,3% após 24 meses de armazenamento prolongado do produto (média de 23°C); (v) e o teor de cálcio também diminuiu após 4 meses de aquecimento prolongado (40 °C). Ainda, os comportamentos registrados para cálcio e sódio foram atribuídos a uma possível atuação desses minerais em complexos com outros constituintes do mel, como polifenóis e proteínas (POHL et al., 2012b; SEGRAGLIO et al., 2021). Desta forma, esses resultados demonstram a importância de conhecer sobre a estabilidade dos minerais nessa matriz, possibilitando com que novas hipóteses sejam levantadas e testadas.

Visto isso, uma vez que os constituintes do mel – incluindo o mel de melato de bracatinga – são afetados pelo tempo e temperatura de armazenamento, suas respectivas interações com os minerais também podem ser influenciadas, induzindo a liberação ou ligação com a matriz. Além disso, durante o armazenamento ou aquecimento prolongado do mel, íons metálicos podem envolver-se em processos de escurecimento não enzimático, participando, por exemplo, como catizadores em reações de *Maillard* ou ligando-se a moléculas produzidas nestas reações (MRPs) (DA SILVA et al., 2016; O'BRIEN & MORRISSEY, 1997; ROUSSEAU et al., 2020a; SERAGLIO et al. 2021b; 2021d; YANG et al., 2019).

Para o sucesso no monitoramento de minerais, a aplicação de metodologias padronizadas para a matriz de estudo é um aspecto importante na rotina analítica. Nos estudos descritos anteriormente (SERAGLIO et al., 2020; SERAGLIO et al., 2021b), os minerais foram quantificados utilizando um método por CE, validado analiticamente para o mel de melato de bracinga (SERAGLIO et al., 2017). Detalhes sobre a técnica de CE, utilizada neste trabalho, são abordados no subitem a seguir.

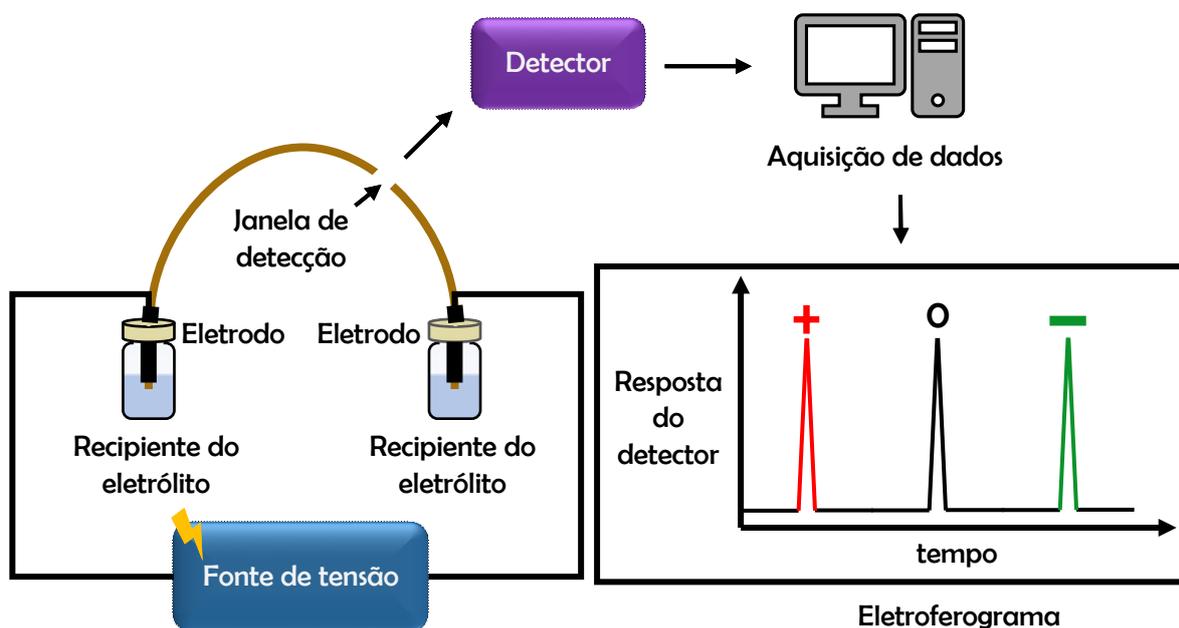
1.2.2 Determinação de minerais em méis por CE

Diversas técnicas analíticas foram aplicadas na identificação e quantificação minerais em méis, a exemplo da espectrometria de absorção atômica (KEK et al., 2017; ESCUREDO; FERNÁNDEZ GONZÁLEZ; SEIJO, 2012), espectrometria de absorção atômica de chama (LEMONS et al., 2017; POHL et al., 2012a; POHL et al., 2012b), espectrometria de emissão óptica de plasma indutivamente acoplado (GONZÁLEZ-MIRET et al., 2005; VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011; VASIĆ et al., 2020; WINIARSKA-MIECZAN et al., 2021) e espectrometria de massa de plasma indutivamente acoplado (CHUDZINSKA; BARALKIEWICZ, 2010; CONTI et al. (2017; VASIĆ et al., 2020). Ocasionalmente, a CE vem sendo empregada para determinação de minerais em méis, especialmente K, Ca, Mn e Mg (SUÁREZ-LUQUE et al., 2005; RIZELIO et al., 2012; BILUCA et al., 2014; SERAGLIO et al., 2017; SHI et al., 2012; SAJTOS, ANDRASI; GASPAR, 2020).

CE é uma técnica instrumental de separação baseada nas diferenças de velocidade de migração dos compostos, ao passarem por um capilar preenchido com eletrólito, sob aplicação de um campo elétrico (TAVARES, 1996; JAGER & TAVARES, 2001). A CE de zona (CZE, do inglês, *capillary zone electrophoresis*) é o modo de separação mais utilizado, onde os analitos são separados conforme as diferentes mobilidades efetivas, decorrentes da composição entre as mobilidades eletroforéticas e a mobilidade eletrosmótica (TAVARES, 1996; SPUDEIT; DOLZAN; MICKE., 2012).

A instrumentação comumente envolvida em um sistema de CE é representada na Figura 1.3.

Figura 1.3 – Representação da instrumentação de eletroforese capilar.



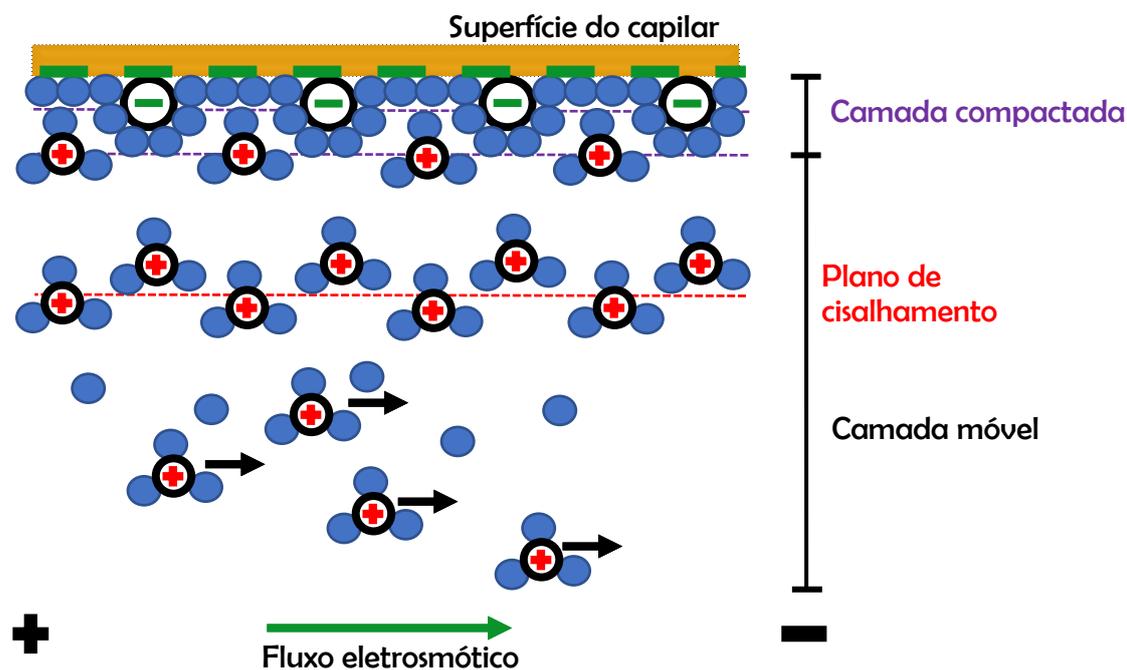
Fonte: Adaptado de Rizelio (2011).

Como observado na Figura 1.3, a CE possui uma instrumentação que consiste em um sistema de injeção, uma coluna capilar para separação (usualmente de sílica fundida), uma fonte de alta tensão, dois reservatórios para acomodar os eletrodos, o capilar e o eletrólito condutor ou de corrida (BGE, do inglês, *background electrolyte*), um sistema de detecção e outro de obtenção e tratamento dos dados (LANDERS, 2008).

As amostras podem ser injetadas pelo modo eletrocinético ou hidrodinâmico. Na injeção eletrocinética, aplica-se um gradiente de potencial ao longo do capilar por um determinado intervalo de tempo. Em decorrência disso, a quantidade da amostra injetada é uma função da mobilidade eletroforética do soluto, da condutividade da amostra e do eletrólito, e da magnitude do fluxo eletrosmótico (abordado mais à frente). Na injeção hidrodinâmica, a amostra é introduzida devido a uma variação de pressão (pressão positiva, vácuo, sifonagem) estabelecida entre o recipiente do eletrólito e o capilar. Desta forma, o tempo de injeção, as dimensões do capilar e a viscosidade da solução tampão, são condições importantes para estabelecer o volume injetado (TAVARES, 1996; SPUDEIT; DOLZAN; MICKE., 2012).

O fluxo eletrosmótico (FEO) é o principal fenômeno que ocorre durante uma separação por CE (VAZ; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2015) e sua representação pode ser observada na Figura 1.4.

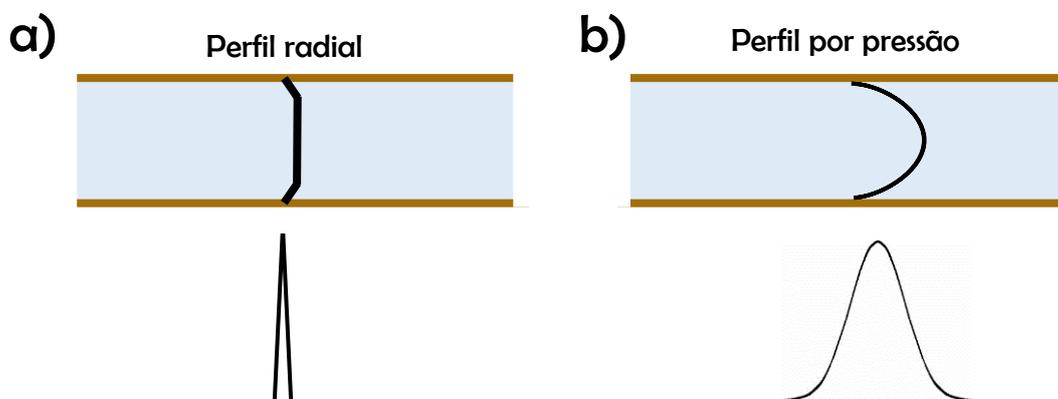
Figura 1.4 – Representação esquemática do fluxo eletrosmótico (FEO).



Fonte: Adaptado de Rizelio (2011).

Conforme ilustrado na Figura 1.4, a parede do capilar é composta por grupos silanois (Si-OH), que possuem caráter ácido. Esses grupos são ionizados em contato com pH superior a 2,0, deixando a parede negativamente carregada. A neutralização dos íons formados ocorre pela atração de prótons (H^+) do BGE – formando uma camada compactada – e de outros cátions, presentes em solução, que formam uma segunda camada, sendo esta móvel. Quando se aplica uma diferença de potencial, os cátions da camada móvel são conduzidos em direção ao cátodo junto com moléculas de água que solvatam esses íons. Esse processo induz o aparecimento de um fluxo líquido, sendo este denominado FEO (COLOMBARA; TAVARES; MASSARO, 1997). Em separações por CE, há dois possíveis mecanismos de análise quanto ao FEO: o modo coeletrosmótico (quando analitos migram na mesma direção do FEO) e contraeletrosmótico (quando analitos migram no sentido contrário ao FEO). No interior do capilar, o FEO é caracterizado por apresentar um perfil radial de velocidade constante (TAVARES, 1997; RIZELIO, 2011), como pode ser visto na Figura 1.5.

Figura 1.5 – Representação do perfil do fluxo radial (eletroforese capilar) e do perfil de fluxo gerado por pressão (cromatografia líquida), com seus respectivos picos resultantes.



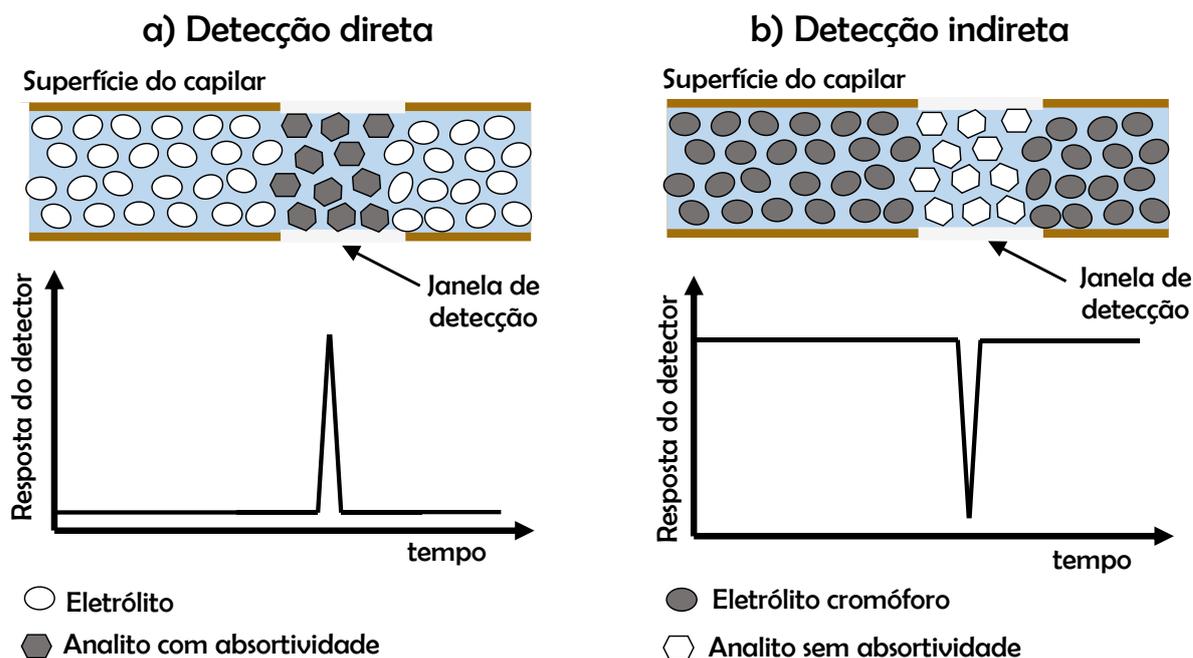
Fonte: Adaptado de Rizelio (2011).

A partir da Figura 1.5 é possível observar que o fluxo com perfil radial contribui para que a CE apresente picos de melhor eficiência quando comparados à cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês, *high performance liquid chromatography*), em que o fluxo é induzido por pressão (TAVARES, 1997; RIZELIO, 2011).

Uma variedade de sistemas de detecção é compatível com a CE, como absorvância, condutividade, fluorescência, espectrômetro de massas e índice de refração, a depender da aplicação, disponibilidade e sensibilidade requerida (SWINNEY; BORNHOP, 2000). Os detectores com configurações na região do UV/Vis, como o detector de arranjo de diodos (DAD, do inglês, *diode array detector*), são os mais utilizados em CE.

É possível que a detecção dos analitos em CE seja realizada de forma direta e indireta, conforme é mostrado na Figura 1.6.

Figura 1.6 – Representação dos modos de detecção direta e indireta aplicados em CE.



Fonte: Adaptado de Rizelio (2011).

De acordo com a Figura 1.6, a detecção pela forma direta é empregada em analitos com alta absorvidade molar, no qual provoca um sinal no momento em que alcança a janela de detecção. A forma indireta é uma estratégia aplicada à analitos com baixa ou nenhuma absorvidade molar, em que um íon cromóforo é adicionado ao BGE, gerando um sinal alto e constante, para que o analito provoque um decréscimo no sinal ao passar pelo detector, permitindo sua medição (BECKERS; BOČEK, 2003; LANDERS, 2008).

A CE apresenta vantagens em relação a outros métodos de eletroforese. A grande área superficial interna pelo uso do capilar e a eficiência quanto ao efeito Joule (ou seja, é capaz de dissipar o calor gerado pela corrente elétrica), possibilita aplicar elevados valores de campo elétrico, otimizando a separação (TAVARES, 1996; RIZELIO, 2011). A CE supera também alguns aspectos quando comparada a outras técnicas de separação, como a cromatografia gasosa e HPLC. Dentre essas vantagens, destaca-se o baixo custo operacional, a rapidez na separação e menores impactos ambientais, uma vez que trabalha com volumes reduzidos de solvente e amostra (TAVARES, 1996; SPUDEIT; DOLZAN; MICKE., 2012).

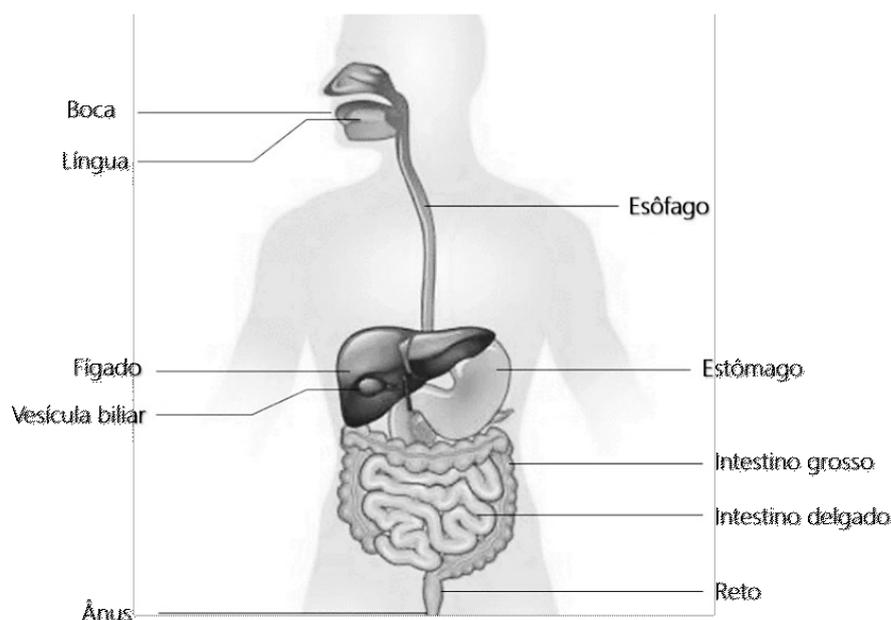
A aplicação da CE foi bem sucedida para a determinação de minerais no mel (K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn e Al) sem qualquer pré-tratamento amostral (apenas diluição foi empregada), mas explorando somente suas características de injeção eletrocínica (SAJTOS, ANDRASI; GASPAR, 2020). Em Rizelio et al. (2012), um método indireto para determinação de cinco minerais (K, Na, Ca, Mg e Mn), com corridas de apenas 2 minutos, foi aplicado para

discriminar a origem geográfica de amostras de méis florais do estado de Santa Catarina. Este método foi modificado por Seraglio et al. (2017), com o objetivo de quantificar minerais em amostras de mel de melato de bracinga antes e após a digestão *in vitro* (após etapa gástrica e duodenal).

2 DIGESTÃO HUMANA

A digestão de um alimento pode ser compreendida como uma série de processos químicos e mecânicos que ocorrem ao longo do trato digestório, com o objetivo de liberar da matriz alimentar principalmente nutrientes que serão absorvidos e metabolizados pelo organismo. Os principais órgãos do sistema digestivo podem ser vistos na Figura 1.7 (BOLAND, 2016; VERHOECKX & COTTER, 2015; SULLIVAN, 2009).

Figura 1.7 – Trato digestivo humano.



Fonte: Adaptado de Sullivan (2009).

A digestão do alimento tem início na boca, como observado na Figura 1.7, onde o alimento é mastigado (quando o alimento é sólido) e misturado com a saliva para a formação do bolo alimentar (BOLAND, 2016). Nesta etapa, o amido presente em certos tipos de alimentos é parcialmente hidrolisado em oligossacarídeos sob catálise da amilase salivar (BUTTERWORTH, WARREN & ELLIS, 2011; SULLIVAN, 2009). O bolo alimentar formado é deglutido e transportado do esôfago ao estômago por movimentos peristálticos, onde é novamente submetido a processos químicos, enzimáticos e mecânicos. O suco gástrico liberado no estômago é responsável por hidrolisar proteínas e lipídios por meio das enzimas

pepsina e lipase gástrica, respectivamente, as quais são ativadas com a diminuição do pH pela presença de ácido clorídrico neste fluido (SULLIVAN, 2009; VERHOECKX & COTTER, 2015).

O quimo – produto obtido da digestão gástrica – é conduzido até o duodeno, uma região do intestino delgado onde o pH desse produto é elevado para condições neutras (pH ~ 7) pela liberação do suco pancreático e sais biliares (BOLAND, 2016; LI et al. 2020). O líquido produzido no pâncreas possui um complexo de enzimas digestivas (incluindo tripsina e quimotripsina) que possibilitam decompor ainda mais as proteínas, lipídeos e carboidratos, em moléculas menores, resultando na formação do quilo (LI et al. 2020). Os sais produzidos no fígado, armazenados e liberados pela vesícula biliar formam micelas com os lipídios, possibilitando a atuação da lipase pancreática e transporte da gordura digerida ao longo do intestino (MALDONADO-VALDERRAMA et al., 2011). Além disso, há enzimas de bordo nos enterócitos do intestino delgado que finalizam a digestão de açúcares e proteínas (VERHOECKX & COTTER, 2015).

Os componentes alimentares (nutrientes ou compostos bioativos) liberados da matriz alimentar ou formados durante o processo de digestão gastrointestinal são absorvidos principalmente pelos enterócitos do jejuno e, em menor nível, no íleo, ambas regiões do intestino delgado que sucedem o duodeno. No intestino grosso, há a absorção de água e eletrólitos, além da atuação da microbiota nativa sobre componentes alimentares que não são digeridos pelas enzimas humanas. Com a absorção entérica, os nutrientes e compostos bioativos são liberados principalmente na corrente sanguínea e, desta forma, podem atuar em suas respectivas funções no organismo. Finalmente, a matéria que não é absorvida pelo organismo é excretada durante a defecação (LI et al. 2020; VERHOECKX & COTTER, 2015; SULLIVAN, 2009).

Apesar dos açúcares, proteínas e gordura serem requeridos em maior quantidade para a nutrição humana, há outros componentes alimentares que, em pequenas concentrações, desempenham funções indispensáveis para o funcionamento do organismo, como os minerais (SULLIVAN, 2009). Esses micronutrientes são responsáveis pela manutenção de respostas fisiológicas normais, por meio da indução do metabolismo em geral, além de exercer influência no sistema circulatório e na reprodução, assim como servem de catalisadores em diversas reações bioquímicas (ALQARNI et al., 2012; DA SILVA et al., 2016). O processo digestivo atua sobre os minerais principalmente nas fases gástrica e intestinal, onde podem ser liberados da matriz alimentar, formar novos compostos com ligantes diferentes ou permanecerem na forma de íons. Dependendo do mineral e da condição de pH ao qual está submetido, a mudança

de valência ao longo da digestão também pode acontecer. A absorção intestinal dos minerais pode ser realizada na sua forma livre ou em complexos hidrossolúveis, via rota entérica ou por canais iônicos (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; GHARIBZAHEDI & JAFARI, 2017).

Desse modo, ao longo do trato digestivo, os processos de liberação e absorção de componentes da matriz alimentar são complexos e dependem da composição do alimento, das condições digestivas e da formação de espécies químicas compatíveis com os mecanismos fisiológicos de absorção. Devido a isso, a quantidade de um nutriente ou composto bioativo presente em um alimento pode não ser a mesma disponível para uso pelo organismo. Neste contexto, pesquisas que apliquem os conceitos de bioacessibilidade e biodisponibilidade são muito importantes para o entendimento dessas variações (ALEGRÍA, GARCIA-LATAS & CILLA, 2015; CARDOSO et al, 2015; FERNÁNDEZ-GARCÍA, CARVAJAL-LÉRIDA & PÉREZ-GÁLVEZ, 2009).

3 BIOACESSIBILIDADE

A biodisponibilidade é definida como a quantidade de um componente alimentar que foi absorvido pelo intestino e está disponível na corrente sanguínea para ser utilizado pelo organismo em células, tecidos e órgãos. A forma química com a qual o componente chega ao intestino, a taxa de absorção entérica e o transporte pelas células corporais são fatores que influenciarão no seu aproveitamento (CILLA et al., 2018; DIMA et al.; 2020). Porém, para tornarem-se biodisponíveis, os componentes alimentares devem primeiramente ser liberados durante a digestão gastrointestinal em formas químicas assimiláveis pelo epitélio intestinal, conforme discutido anteriormente. Desse modo, a condução de estudos de bioacessibilidade fornece informações relevantes sobre as transformações que podem ocorrer com um componente alimentar ao longo da digestão, sendo um passo importante para a compreensão da biodisponibilidade (CILLA et al., 2018; FERNÁNDEZ-GARCÍA, CARVAJAL-LÉRIDA & PÉREZ-GÁLVEZ, 2009).

A bioacessibilidade é definida como a fração de um nutriente ou composto que foi liberado da matriz alimentar durante a digestão, estando este acessível para a absorção no epitélio intestinal. Ou seja, um composto bioacessível se torna potencialmente biodisponível (CILLA et al., 2018; DIMA et al.; 2020). Desse modo, a fração bioacessível de um componente alimentar é dependente das condições do processo digestivo (estado alimentado ou em jejum, composição dos fluidos, pH e duração de cada etapa da digestão) e da matriz alimentar ao qual pertence (ALMINGER et al., 2014; GALANAKIS, 2017).

A concentração inicial do componente alimentar, a composição e as condições que se encontram antes da ingestão são os principais fatores relacionados à influência da matriz. Nessa perspectiva, os fatores extrínsecos, como as mudanças ocasionadas pelo armazenamento, também podem resultar no aumento ou diminuição da fração bioacessível de um componente alimentar (PARADA & AGUILERA, 2007; GALANAKIS, 2017). De acordo com Parada e Aguilera (2007), é provável que este comportamento seja causado (i) pela ruptura das paredes celulares, quando se trata de alimentos com tecido vegetal; (ii) pela formação ou dissociação de complexos componente alimentar-matriz; ou ainda (iii) por transformações estruturais da molécula. Com base nisso, a investigação do potencial impacto causado pelo armazenamento no comportamento bioacessível de componentes alimentares, como os minerais, é fundamental (CILLA et al., 2018; RAES et al., 2014).

Para méis, inexitem até o momento dados que abordem sobre a efeito do armazenamento na bioacessibilidade de minerais ou de outros grupos de constituintes (compostos fenólicos, proteínas, aminoácidos e ácidos orgânicos, por exemplo). No entanto, os poucos estudos conduzidos com outros tipos de matrizes alimentares demonstram tal influência (GWALA et al., 2020; ROUSSEAU et al., 2020b; SILVA et al., 2018). Gwala et al. (2020), ao avaliarem a bioacessibilidade de alguns minerais (cálcio, magnésio, ferro e zinco) em amendoins (inteiros e descascados) estocados por 16 e 32 semanas à 35 °C e 78% de umidade relativa, verificaram que estas condições exerceram influência significativa somente para cálcio e magnésio, causando uma redução na bioacessibilidade desses minerais. Rousseau et al. (2020b) observaram a diminuição gradativa da fração bioacessível de cálcio, ferro e zinco em feijões armazenados após 8 e 20 semanas à 35 °C e 80% de umidade relativa, enquanto o magnésio apresentou estabilidade sob essas condições. Silva et al. (2018), ao avaliarem o impacto do armazenamento (30 e 60 dias, à 12 °C) sobre a bioacessibilidade de minerais em queijo prato elaborado com redução de sódio e adição de melhoradores de sabor (extrato de arginina, levedura e orégano), notaram o aumento da fração bioacessível para o magnésio, potássio, cálcio, zinco e fósforo. Desse modo, considerando as mudanças que ocorrem na concentração de minerais ao longo do tempo em méis (SERAGLIO et al., 2021b), conforme abordado anteriormente (*vide* subitem 3.1.2.3), torna-se relevante verificar também o comportamento bioacessível desses constituintes nesse tipo de matriz.

É importante salientar que a obtenção de dados de bioacessibilidade é um desafio, visto que não é possível simular totalmente as condições reais da digestão humana em laboratório. Todavia, os modelos de digestão *in vitro* são uma ferramenta importante para obtenção de dados

estimativos e são delineados com a finalidade de simular de maneira aproximada as condições *in vivo* (ALMINGER et al., 2014; LI et al., 2020).

3.1 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO*

Estudos em humanos são a abordagem padrão de critério para determinar a bioacessibilidade/biodisponibilidade de nutrientes alimentares ou compostos bioativos. No entanto, tal abordagem demanda longos tempos de investigação, altos custos de análise, autorizações em comitês de ética, além de que as condições de digestão são difíceis de controlar, acarretando uma baixa repetibilidade causada pelas variações no trato digestivo de cada indivíduo (DIMA et al., 2020; FERNÁNDEZ-GARCÍA, CARVAJAL-LÉRIDA & PÉREZ-GÁLVEZ, 2009). Desta forma, o uso de modelos de digestão *in vitro* se tornam a principal forma atualmente empregada para estimar essas informações, especialmente considerando a bioacessibilidade (ETCHEVERRY; GRUSAK; FLEIGE, 2012; ALMINGER et al., 2014; BRODKORB et al., 2019; LI et al., 2020).

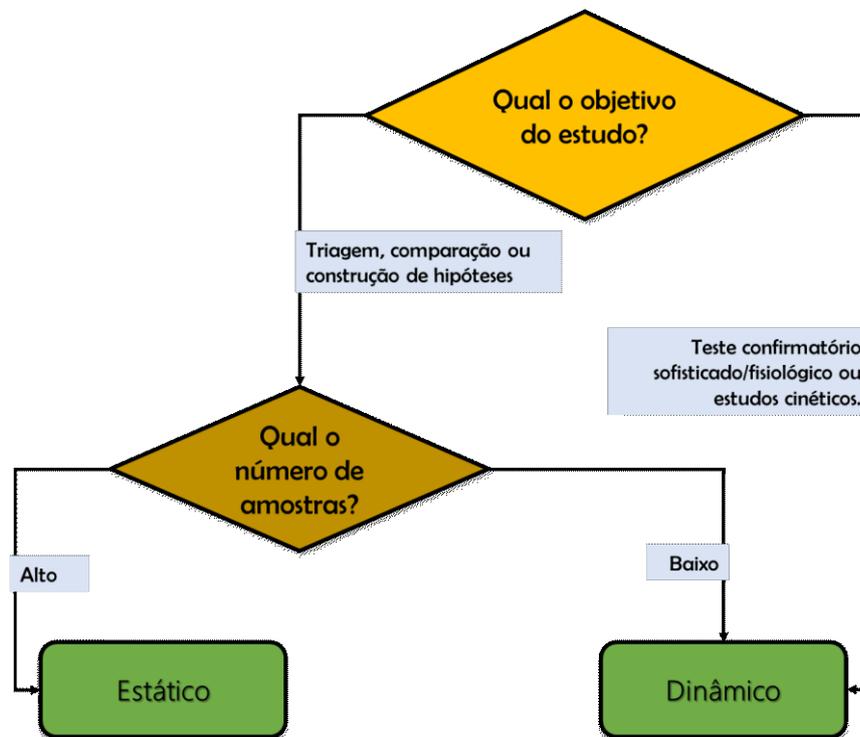
Por meio desses modelos, é possível realizar triagens em alto desempenho, fornecer informações em cada etapa da digestão (inclusive mecanismos de transporte), validar e padronizar os protocolos com materiais de referência, desenvolver modelos miniaturizados e automatizados, minimizar custos e burocracia. Por outro lado, a reprodução completa da digestão – considerando fatores físico-químicos (complexos enzimáticos, pH, concentração temperatura, entre outros), mecânicos (movimentos peristálticos, mastigação, entre outros) e biológicos (aspectos morfo-anatômicos, fatores etários, entre outros) – é a principal limitação apresentada por modelos de digestão *in vitro* (DIMA et al., 2020; CARBONELL-CAPELLA et al., 2014; FERNÁNDEZ-GARCÍA, CARVAJAL-LÉRIDA & PÉREZ-GÁLVEZ, 2009)

Com a crescente preocupação por parte da comunidade científica em desenvolver modelos de digestão *in vitro*, existe uma diversidade de métodos empregados, muitos destes singulares entre si, que se distinguem por exemplo pelo número e tipo de fases consideradas no processo digestivo (oral, gástrica e intestinal), composição e origem dos fluidos utilizados (enzimas digestivas, sais biliares, eletrólitos), aplicação ou não de forças mecânicas que mimetizam o peristaltismo e motilidade, e características particulares para diferentes faixas etárias. Essas variantes podem favorecer a obtenção de dados conflituosos, dificultando a comparação entre estudos. Diante deste cenário, foi criado o INFOGEST, uma rede internacional e multidisciplinar de pesquisadores que se atentam (mas, não somente) em harmonizar e padronizar tais protocolos (DIMA et al., 2020; LI et al., 2020, MINEKUS et al., 2014; BRODKORB et al., 2019).

É possível classificar os modelos de digestão *in vitro* em modelos dinâmicos e estáticos. A principal diferença do primeiro em relação ao segundo está exatamente no emprego dos aspectos dinâmicos da digestão, tais como a taxa de liberação de fluidos (gástrico, intestinal e bile) e variações de pH ao longo do tempo. Além disso, alguns desses modelos consideram aspectos anatômicos e fluxo de entrega do alimento entre um compartimento a outro do trato gastrointestinal. Por outro lado, modelos estáticos simulam etapas pontuais da digestão (oral, gástrica e intestinal) em um conjunto único de condições bioquímicas (tempo, temperatura, enzimas, pH e sais biliares) para cada etapa (LI et al., 2020).

Apesar dessas diferenças, ambos os modelos geram informações relevantes para o entendimento da bioacessibilidade de constituintes alimentares. No entanto, o uso de modelos estáticos prevalece em relação aos modelos dinâmicos, devido a custos materiais e operacionais substancialmente menores. A proposta é que o modelo aplicado seja apropriado para o escopo do estudo, por isso, tomadas de decisões são recomendadas para escolher o modelo de digestão mais adequado, como pode ser visto no fluxograma da Figura 1.8 (ALMINGER et al., 2014; MINEKUS et al., 2014).

Figura 1.8 – Fluxograma de decisão para escolher o modelo de digestão *in vitro*.



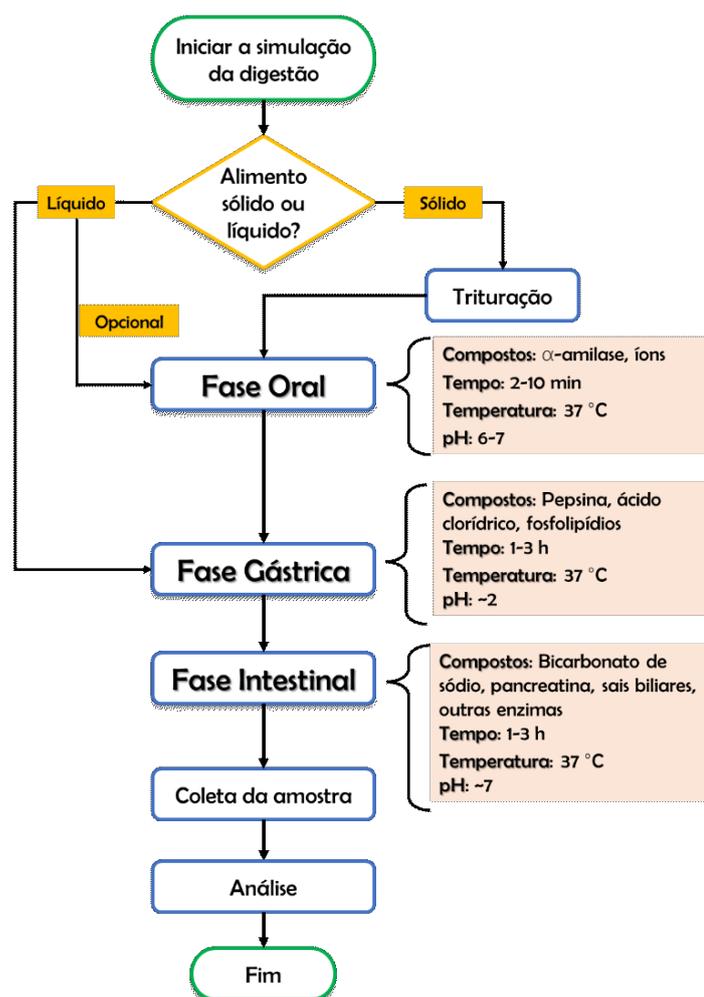
Fonte: Adaptado de Alminger et al. (2014) e Li et al. (2020).

Conforme mostrado na Figura 1.8, modelos estáticos são indispensáveis quando se deseja testar hipóteses, realizar triagens ou investigações baseadas em comparação. Além disso,

quando é necessário ou há disponível um número elevado de amostras, estes modelos são mais interessantes. Desta forma, dados de bioacessibilidade obtidos a partir de metodologias estáticas de digestão são fundamentais para propor mecanismos de liberação de um nutriente ou bioativo em uma matriz alimentar, assim como avaliar os efeitos das etapas principais de digestão na bioacessibilidade. O protocolo padronizado e harmonizado pelo INFOGEST, atualmente na sua segunda versão, é cada vez mais requerido e aplicado, mas há ainda na literatura científica outros protocolos disponíveis, visto a necessidade de ponderar a metodologia de digestão *in vitro* aplicado com as particularidades observadas em cada matriz alimentar e/ou composto-alvo investigados (ALMINGER et al., 2014; LI et al., 2020; EGGER et al., 2016; DIMA et al., 2020; BRODKORB et al., 2019).

As condições geralmente empregadas para avaliação da bioacessibilidade *in vitro* empregando um modelo estático estão compiladas em forma de fluxograma na Figura 1.9.

Figura 1.9 – Fluxograma genérico de digestão estática *in vitro*.



Fonte: Adaptado de Alminger et al. (2014); Minekus et al. (2014); Brodkorb et al. (2019); Carbonell-Capella et al. (2014); Seraglio (2020).

Conforme apresentado na Figura 1.9, a fase oral torna-se opcional para alimentos líquidos, mas vem tornando-se cada vez mais necessária aos em estado sólido (previamente triturado). Quando esta etapa é aplicada, a enzima α -amilase salivar pode ser misturada com o alimento (indicado o seu uso quando se trata de alimentos ricos em amido), sob presença ou não de íons, durante poucos minutos em pH variando entre 6 e 7. Após isso, o bolo alimentar simulado é submetido a etapa gástrica, no qual sofre a ação da enzima pepsina na presença de ácido clorídrico (pH \sim 2), por períodos aproximados de 2 horas. Geralmente não são empregadas outras enzimas, como a lipase gástrica nessa etapa. O quimo simulado obtido é então submetido à fase intestinal, onde apenas as condições duodenais de digestão costumam ser simuladas. Nessa etapa, o pH do quimo é elevado a valores normalmente entre 6,5 e 8,0, os sais biliares e pancreatina são adicionados e este meio é digerido por períodos de aproximadamente 2 horas. Para todas as fases simuladas, a temperatura empregada é de 37 ± 2 °C. Finalmente, a fração obtida das amostras digeridas após cada etapa da digestão ou apenas após a digestão completa são conduzidas para análise (ALMINGER et al., 2014; MINEKUS et al., 2014; BRODKORB et al., 2019; CARBONELL-CAPELLA et al., 2014; SERAGLIO, 2020).

Essas condições foram consideradas nos estudos de bioacessibilidade de compostos em méis (POHL et al., 2012b; DAGLIA et al., 2013; SERAGLIO et al., 2017; BILUCA et al., 2017; CIANCIOSI et al., 2020a; CIANCIOSI et al., 2020b). A aplicação das fases gástrica e duodenal, assim como as condições de tempo, temperatura, tipo de enzimas e sais biliares são comumente empregados e semelhantes entre os protocolos. Todavia, há diferenças substanciais em relação as condições de pH em cada fase da digestão e das concentrações das enzimas, sais biliares e de outros reagentes adicionados. Tais distinções dificultam a comparação dos resultados entre os estudos. A mudança de algum desses parâmetros pode influenciar diretamente nas transformações ocasionadas pela digestão *in vitro* nas características do mel (SERAGLIO et al., 2021c). Além disso, a aplicação do estágio oral e da lipase gástrica foram dispensados, devido ao mel se tratar de uma matriz com baixíssima concentração de amido e lipídeos, respectivamente (ESCUREDO et al., 2013; DAGLIA et al., 2013; SERAGLIO et al., 2017; BILUCA et al., 2017; CIANCIOSI et al., 2020a; CIANCIOSI et al., 2020b; SERAGLIO et al., 2021c). Ainda, com a baixa concentração de lipídeos no mel, torna-se negligenciável o uso de sais biliares nos protocolos de digestão *in vitro* aplicados para esse tipo de matriz, a depender do tipo de analito investigado. Para a investigação da bioacessibilidade de minerais, por exemplo, a exclusão desses sais orgânicos pode auxiliar na diminuição de interferências durante as análises, tal como o efeito da força iônica em análises conduzidas por CE (MINEKUS et al., 2014; SERAGLIO et al., 2021c; SPUDEIT; DOLZAN; MICKE., 2012).

3.2 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS EM MÉIS

No mel, a composição majoritária (glicose e frutose, principalmente) e minoritária (como minerais, vitaminas, metilglioxal, compostos voláteis, peptídeos, aminoácidos, ácidos orgânicos e compostos fenólicos) são responsáveis pelas propriedades nutricionais, físico-químicas e bioativas desse alimento. Contudo, a quantidade desses compostos pode ser influenciada pelo processo digestivo, influenciando, conseqüentemente, sua possível absorção e posterior atuação no organismo. Nesse sentido, o aumento ou diminuição da bioacessibilidade desses componentes pode ser decorrente, por exemplo, de modificações nas suas características físico-químicas ou por meio de interações que possam ocorrer durante o processo digestivo (POHL et al., 2012a; 2012b; SERAGLIO et al., 2021c). Baseado nisso, alguns estudos de bioacessibilidade *in vitro* já foram realizados em méis para avaliação de compostos fenólicos (SERAGLIO et al., 2017; CIANCIOSI et al., 2020a), metilglioxal (DAGLIA et al., 2013) e minerais (POHL et al., 2012b; SERAGLIO et al., 2017; BILUCA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2019). Além disso, o efeito da digestão *in vitro* também foi avaliado para as atividades antioxidante (O’SULLIVAN et al., 2013; SERAGLIO et al., 2017; CIANCIOSI et al., 2020b), anticâncer (CIANCIOSI et al., 2020a) e de proteção do DNA (O’SULLIVAN et al., 2013).

Daglia et al. (2013) avaliaram os efeitos da digestão *in vitro* na bioacessibilidade de metilglioxal no mel de Manuka (*Lectospermum scoparium*), sendo este um composto que contribui para a atividade antibacteriana em méis (DAGLIA et al., 2013; TERIO et al., 2021). Após a aplicação do ensaio *in vitro*, observaram a diminuição na concentração bioacessível desse composto devido às reações de carbonilação com enzimas digestivas.

Os efeitos da digestão gastrointestinal *in vitro* sobre compostos fenólicos foram avaliados em amostras de mel de melato de bracinga (SERAGLIO et al., 2017) e mel de Manuka (CIANCIOSI et al., 2020a). Em ambos os estudos, a digestão *in vitro* afetou significativamente a concentração desse grupo de substâncias, mas o comportamento apresentado em cada estudo foi distinto. Seraglio et al. (2017) notaram alta estabilidade dos compostos fenólicos avaliados após a fase duodenal, apresentando uma fração bioacessível que variou de 78,2 a 174,4%. Por outro lado, no estudo de Cianciosi et al. (2020a) houve uma diminuição da concentração de compostos fenólicos após a digestão *in vitro*, com decréscimo na concentração total de compostos fenólicos de 191 para 76 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Possivelmente, esses diferentes resultados podem ser derivados de um fator intrínseco associado a cada tipo de mel (SERAGLIO et al., 2021c).

Outros fatores podem estar associados ao aumento ou diminuição da fração

bioacessível de componentes no mel. Os compostos fenólicos, por exemplo, podem ser suscetíveis a diferentes modificações principalmente na fase duodenal de digestão, devido a menor estabilidade nas condições de pH desta etapa (condições neutra e alcalina) (HELAL et al., 2014; ALMINGER et al., 2014; SERAGLIO et al., 2021c). Apesar de serem difíceis de serem controlados e identificados, alterações na solubilidade, oxidação, modificações estruturais, interações com as enzimas digestivas e formação de complexos entre os componentes da matriz também podem ocorrer. Por exemplo, a bioacessibilidade de minerais pode ser afetada pela formação de complexos com fibras, fitatos, polifenóis ou proteínas da composição da matriz alimentar. A partir disso, é possível que a presença de compostos fenólicos e proteínas no mel exerçam alguma influência sobre os minerais, podendo contribuir ou não para a redução ou aumento da fração bioacessível desta classe de compostos após a digestão (POHL et al., 2012b; ŚWIECA et al., 2013; HELAL et al., 2014; ALMINGER et al., 2014; SERAGLIO et al., 2017; ROUSSEAU et al. 2020a; SERAGLIO et al., 2021a; SERAGLIO et al., 2021c).

Por fim, é importante ressaltar que os potenciais fatores que afetam a bioacessibilidade de compostos no mel não se limitam aos discutidos aqui. Desta forma, o aprofundamento dos estudos com esse alimento, direcionados a classes de compostos com importância nutricional/bioativa, tal como os minerais, possui relevância.

3.3 BIOACESSIBILIDADE DE MINERAIS EM MÉIS: QUAL O ESTADO DA ARTE?

Alguns estudos já avaliaram o efeito da digestão *in vitro* na bioacessibilidade de minerais em méis (POHL et al., 2012b; SERAGLIO et al., 2017; BILUCA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2019) e os principais resultados encontrados estão sumarizados a seguir.

Pohl et al. (2012b) avaliaram a bioacessibilidade de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn em méis florais (acácia, trigo sarraceno, urze e tilia) e mel de melato de árvores coníferas comercializados na Polônia, aplicando um método de digestão gastrointestinal *in vitro* e filtração por membrana (modelo estático). Os autores observaram que a fração bioacessível foi elevada (80 a 100%) para todas as espécies químicas investigadas. Além disso, o Mn foi o único mineral que apresentou uma contribuição relevante para a Ingestão Dietética de Referência (DRI, do inglês, *Dietary Reference Intakes*), fornecendo até 65% do DRI se for considerado o consumo diário de 100 g de mel (ingestão máxima diária de mel para consumo adulto) (MOLAN, 2001).

Seraglio et al. (2017) dedicaram parte de seu estudo a determinação das concentrações dos minerais K, Ca, Mg e Mn em méis de melato de bracinga, após a digestão gástrica e

duodenal, utilizando um processo de digestão gastrointestinal estático *in vitro*. Seus achados destacaram elevados percentuais dos minerais investigados após a etapa gástrica (93-108%) e após a digestão duodenal, em alguns casos como para o Ca, houve aumento significativo da fração bioacessível (94-220%). Além disso, foi observado uma correlação positiva dos minerais com a capacidade antioxidante, especialmente após a etapa gástrica.

Biluca et al. (2017) investigaram a bioacessibilidade de diversos elementos minerais (Al, Ba, Ca, Co, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni e Zn) em méis multiflorais de abelhas sem ferrão (Meliponinae) do Sul do Brasil, utilizando um protocolo estático de digestão gastrointestinal *in vitro*. As frações bioacessíveis dos minerais quantificados também foram altas (73-107%), mas com suas contribuições à ingestão diária recomendada permanecendo baixas ao considerar o consumo máximo diário recomendado para um adulto (100 g de mel) (MOLAN, 2001).

Oliveira et al. (2019) aplicaram o teste simplificado de extração como uma metodologia de digestão *in vitro* para avaliar a sua influência sobre os minerais Ca, Fe, K, Mg e Na em méis florais (de origem botânica desconhecida) comercializados no Brasil e em Portugal. Diferentemente dos estudos anteriores, os percentuais obtidos foram baixos (10-20%). No entanto, tal comportamento pode ser atribuído à metodologia utilizada pelos autores, visto que se trata apenas de uma digestão ácida, em etapa única, a qual não faz uso de enzimas digestivas e sais biliares (OOMEN et al., 2002), sendo assim muito distinta das condições comumente preconizadas para simulação da digestão *in vitro*.

De modo geral, o comportamento bioacessível de minerais já foi estudado em méis de melato e florais de abelhas *Apis mellifera* e méis florais de abelhas sem ferrão (Meliponinae). Apesar do perfil e concentração de minerais no mel variar por fatores intrínsecos e extrínsecos, as frações bioacessíveis são comumente elevadas, independente da concentração e tipo de mineral. Todavia, a metodologia de digestão *in vitro*, bem como os fatores relacionados à matriz alimentar não podem ser negligenciados, uma vez que podem exercer influência nos resultados. Além disso, mesmo que a concentração bioacessível de minerais do mel não tenha uma contribuição nutricional significativa com base no DRI, sua relevância está associada às atividades bioativas que essas espécies podem desempenhar, como por exemplo a atividade antioxidante.

Diante disso, apesar de o conhecimento sobre a bioacessibilidade de minerais estar mais avançado em relação a outros constituintes do mel, as informações limitam-se a aspectos relacionados com a origem geográfica, fonte botânica, tipo de produto (mel floral ou mel de melato) e espécie de abelha produtora (*Apis mellifera* ou Meliponinae). Sendo assim,

investigações que contemplem outros aspectos, evidenciado neste trabalho, o qual avalia a influência do armazenamento na bioacessibilidade dos minerais, amplia o conhecimento quanto aos efeitos da digestão *in vitro* de minerais encontrados no mel.

Capítulo 2 – Efeito de diferentes condições de armazenamento na concentração total e bioacessível de minerais do mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham)

1 INTRODUÇÃO

O mel é um alimento natural elaborado por abelhas (*Apis mellifera*) e constituído principalmente por açúcares simples (glicose e frutose, principalmente), água, além de uma gama de compostos presente em menor concentração (minerais, compostos fenólicos, proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos) (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; RIZELIO et al., 2020). Normalmente, o mel de melato (produzido a partir de secreções de partes vivas de planta ou de excreções de insetos sugadores de planta) possui características que o diferem em relação ao mel floral (produzido a partir do néctar das flores), como o menor teor de açúcares, cor escura e maior teor de compostos fenólicos e minerais (BERGAMO et al., 2019a; LOVAKOVIĆA et al., 2018; PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017; SERAGLIO et al., 2019; SILVA et al., 2020).

O mel de melato de bracatinga é um produto com selo de Denominação de Origem, apreciado principalmente pelos consumidores europeus. Este mel é produzido exclusivamente na região Sul do Brasil, a partir de excreções açucaradas de insetos sugadores de plantas (*Tachardiella* sp. ou *Stigmatococcus paranaensis* Foldi) fixadas em árvores de bracatinga (*M. scabrella* Bentham). Sua produção ocorre entre janeiro e junho, coincidindo com os períodos de menor oferta de néctar e pólen, e apenas a cada dois anos, devido ao ciclo de vida do inseto (BERGAMO 2019a; MAZUCHOWSKI et al., 2014; SILVA et al., 2022). Dentre suas características, destacam-se a elevada acidez, cor escura e maior conteúdo de minerais e outros constituintes (ácidos orgânicos, aminoácidos, proteínas, compostos fenólicos) em relação a méis florais (AZEVEDO et al. 2017a; 2017b; BERGAMO et al., 2018; BRUGNEROTTO et al. 2019b; SERAGLIO et al., 2016; SILVA et al., 2019)

Minerais são elementos envolvidos em inúmeras vias bioquímicas que são cruciais para a manutenção da vida humana, portanto seu consumo é muito importante (GHARIBZAHEDI & AFARI, 2017; CASE; ZUBIETA & DOYLE, 2020). O conteúdo de minerais no mel pode contribuir para efeitos benéficos à saúde, como na capacidade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana (AZEVEDO et al., 2021; SERAGLIO et al., 2017; SILVA, 2020). Entretanto, para que exerçam suas propriedades biológicas no organismo, esses elementos inorgânicos precisam ser liberados da matriz alimentar durante o processo de digestão gastrointestinal, tornando-se bioacessíveis (ALMINGER et al., 2014; CILLA et al., 2018; DIMA et al.; 2020). Normalmente, a bioacessibilidade de minerais é avaliada por meio da simulação *in vitro* da digestão gastrointesnal (LI et al., 2020; MINEKUS et al., 2014). Além disso, a forma como esses elementos são encontrados na matriz alimentar

(livres ou ligados) pode influenciar na sua bioacessibilidade (PARADA e AGUILERA, 2007; SERGIEL & POHL, 2010).

Até o momento, pouco se sabe em relação às formas químicas que os minerais são encontrados no mel (SERGIEL & POHL, 2010), incluindo as implicações na bioacessibilidade (POHL et al., 2012b; SERAGLIO et al., 2017; BILUCA et al., 2017; SERAGLIO et al., 2021c). Embora a maioria dos minerais possam estar em sua forma livre no mel (potencialmente bioacessível), uma pequena quantidade dos minerais pode interagir com outros constituintes da matriz (como proteínas, aminoácidos compostos fenólicos e ácidos orgânicos), o que pode impactar na sua bioacessibilidade (SERGIEL & POHL, 2010).

Além disso, é possível que as transformações que ocorrem durante o armazenamento resulte em mudanças no conteúdo de minerais, conforme observado no estudo de Seraglio et al. (2021b) para o mel de melato de bracatinga armazenado ao longo de 24 meses a temperatura ambiente. Tempo e temperatura de armazenamento podem afetar a estabilidade de diversos constituintes do mel de melato de bracatinga, além de favorecer mecanismos de escurecimento não enzimático, como o a reação de *Maillard* (SERAGLIO et al. 2021b; 2021d). O armazenamento pode induzir à liberação ou ligação dos minerais presentes na matriz, dependendo da transformação ocorrida com cada constituinte (ROUSSEAU et al., 2020a). Alguns metais, podem atuar como catalisadores em reações de escurecimento não enzimático do mel, o que pode levar ao envolvimento com produtos da reação de *Maillard* (MRPs) que possuam sítios de complexação (DA SILVA et al., 2016; YANG et al., 2019; SERAGLIO et al., 2021b). Esses aspectos também podem provocar a liberação ou não dos minerais após a digestão *in vitro*.

Neste contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar o impacto de diferentes tempos e temperaturas de armazenamento (após 8, 16 e 24 meses à 23 °C e após 4 meses à 40 °C) em relação ao conteúdo livre total e na fração bioacessível de minerais (magnésio, cálcio, potássio, sódio e manganês) no mel de melato de bracatinga.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Em todos os procedimentos de análise, foram utilizados reagentes de grau analítico (pureza $\geq 95\%$) e água ultrapura (Milli-Q, Millipore, Bedford, Massachusetts, E.U.A.).

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

Para os ensaios de digestão *in vitro*, foram utilizadas as enzimas pancreatina (pâncreas suíno, P7545 - 207 unidades de protease mg^{-1} sólido; 238 unidades de α -amilase mg^{-1} sólido; e 29,9 unidades de lipase mg^{-1} sólido) e pepsina (mucosa gástrica suína, P7000 - 474 unidades mg^{-1} sólido) da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, E.U.A.); e 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.).

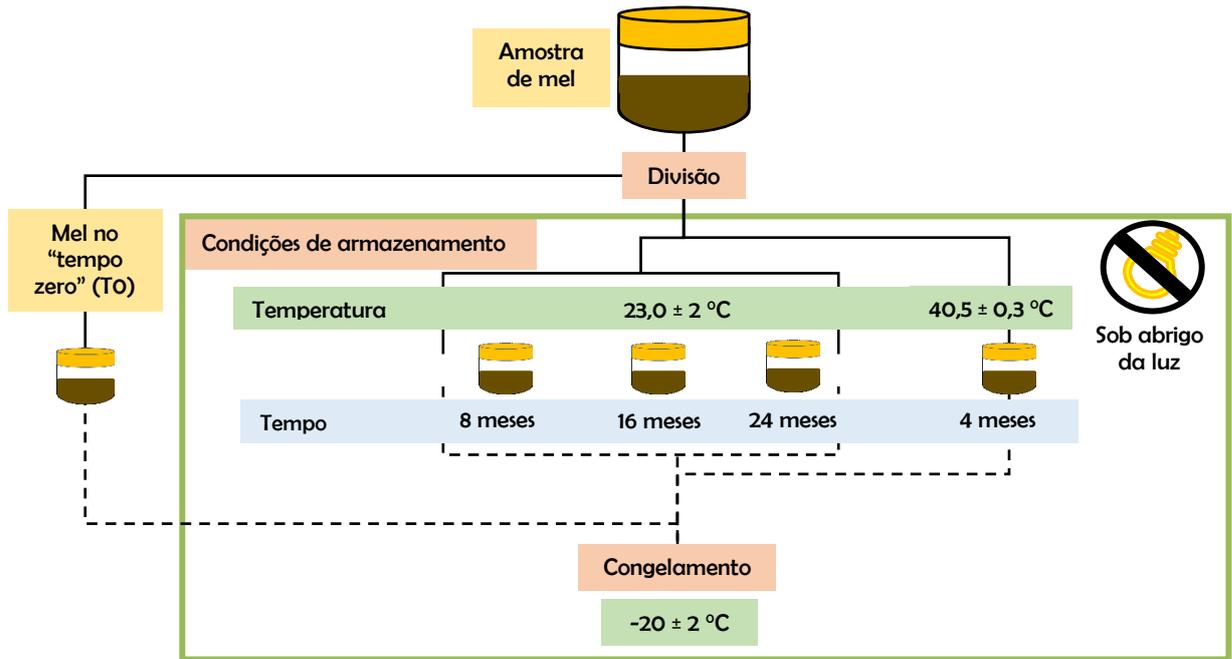
2.2 AMOSTRAS

As amostras de mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham) avaliadas neste estudo foram coletadas durante os meses de março a junho de 2016, em apiários localizados em três regiões do estado de Santa Catarina, Brasil: Urupema (altitude: 1342 m; latitude: 28° 17' 38"; longitude: 49° 55' 54"), Bocaina do Sul (altitude: 860 m; latitude: 27° 44' 40"; longitude: 49° 56' 40") e Lages (altitude: 930 m; latitude: 27° 49' 0"; longitude: 50° 19' 35"). A coleta ocorreu com os méis ainda nos favos, os quais foram acondicionados em sacos plásticos individuais, identificados e imediatamente conduzidos em recipientes isotérmicos a 5 ± 2 °C até o Laboratório de Química de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, onde foram manualmente drenados. O mel recolhido durante a drenagem foi filtrado, homogeneizado, acondicionado em fracos de polipropileno e congelado a -20 ± 2 °C até o término do período de coleta das amostras.

2.2.1 Condições de armazenamento

Ao final do período de coleta, as amostras foram simultaneamente descongeladas, homogeneizadas em temperatura ambiente e divididas conforme representado na Figura 2.1.

Figura 2.1 – Representação descritiva sobre as condições de armazenamento empregadas nas amostras de mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham).



Fonte: Próprio do autor (2022).

Como representado na Figura 2.1, os méis foram divididos em frascos de polipropileno com capacidade de 100 mL, contendo aproximadamente 85 g de mel e imediatamente submetidas às suas respectivas condições de armazenamento. A quantidade restante foi transferida para outros tubos de polipropileno e novamente congelada ($-20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), sendo este considerado como o mel no “tempo zero” (T0). Para cada amostra, um frasco foi submetido a temperatura controlada de $40,5 \pm 0,3 \text{ }^\circ\text{C}$, durante 4 meses e sob o abrigo da luz, como forma de simular possíveis condições extremas de temperatura que o mel pode enfrentar, como por exemplo durante o seu transporte. Outros três frascos foram armazenados à temperatura ambiente (TA, $23,0 \pm 2,3 \text{ }^\circ\text{C}$), em diferentes períodos de armazenamento (8, 16 e 24 meses) e sob o abrigo da luz, como forma de simular o armazenamento doméstico. O monitoramento de tais condições estão descritos no Anexo A. Após alcançar o período de armazenamento estipulado, a referida amostra de mel foi transferida para tubos de polipropileno e congelado ($-20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), onde permaneceram nesta condição até o momento das análises.

2.2.2 Preparo das amostras

Os méis de cada região geográfica no “tempo zero” e estocados (à temperatura ambiente e à temperatura controlada a 40 °C) foram descongelados, homogeneizados e submetidos a determinação de minerais antes e após a digestão gastrointestinal *in vitro*.

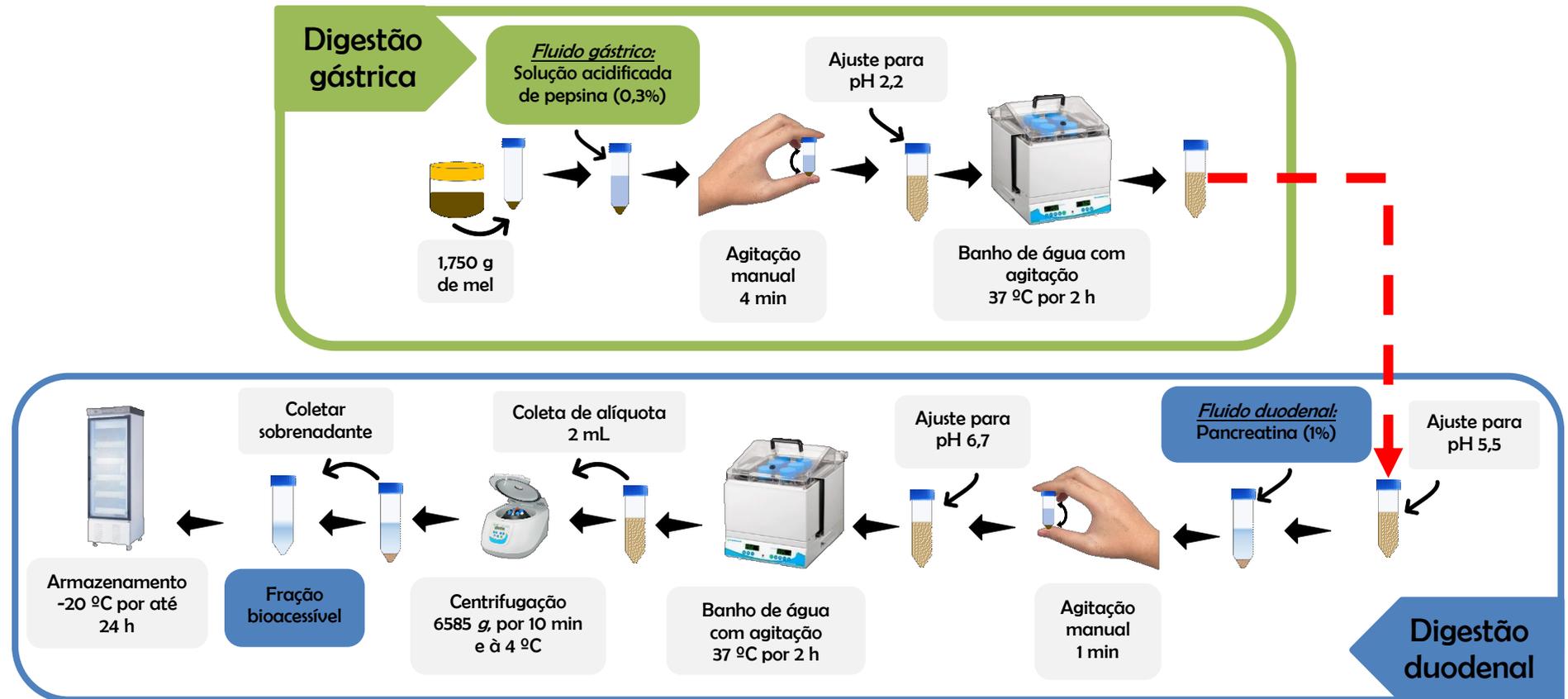
Para a determinação dos minerais nos méis não digeridos, as amostras foram preparadas conforme descrito por Rizelio et al. (2012a), com adaptações de Seraglio et al. (2017). Desta forma, em um balão volumétrico de 2 mL, foram pesados $0,6 \pm 0,001$ g de cada amostra e este balão avolumado com água ultrapura. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas, centrifugadas a 6585 g por 5 min a $4 \pm 0,2$ °C e o sobrenadante foi diluído na proporção 9:1 (v/v) com o padrão interno (Ba) resultando na concentração final de 68,66 mg L⁻¹. É válido ressaltar também que novas diluições foram realizadas nas amostras, conforme a necessidade e concentração dos analitos avaliados.

2.3 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL *in vitro*

O efeito da digestão gastrointestinal sobre os minerais presentes nos méis no “tempo zero” e estocados foram avaliados pelo protocolo adaptado de Seraglio et al. (2017). Trata-se de um modelo estático de digestão *in vitro* que simula as etapas gástrica e duodenal.

Previamente aos ensaios, os fluidos digestivos (soluções gástrica e duodenal) foram preparados. Para a solução gástrica, 0,16 g de pepsina foi dissolvido em 0,35 mL de HCl 12 mol L⁻¹ e avolumado para 50 mL com água ultrapura. A solução duodenal foi preparada a partir da dissolução de 0,1 g de pancreatina em 0,1 mL de NaHCO₃ 0,5 mol L⁻¹ e avolumado para 10 mL com água ultrapura. Com as soluções digestivas preparadas, os ensaios *in vitro* foram realizados conforme descrito na Figura 2.2.

Figura 2.2 – Procedimento de digestão *in vitro* empregado no mel de melato de bracinga (*M. scabrella* Bentham).



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

Como apresentado na Figura 2.2, ao final do processo de digestão *in vitro*, alíquotas foram coletadas, centrifugadas, os sobrenadantes congelados e analisados dentro de um período de 24 h. Uma amostra “branco”, constituída somente de água ultrapura, foi submetida ao procedimento de digestão *in vitro*, como forma de conhecer uma possível influência das soluções utilizadas neste protocolo nas concentrações dos analitos, ao qual foi considerada nos cálculos finais.

Na determinação de minerais por CE-DAD, essas alíquotas foram descongeladas, homogeneizadas e diluídas na proporção 9:1 (v/v) com o padrão interno (Ba) resultando na concentração final de 68,66 mg L⁻¹. Novas diluições foram realizadas sempre que necessário.

2.3.1 Cálculo da fração bioacessível

Para o cálculo da fração bioacessível (%), foi utilizado as concentrações obtidas por cada mineral ao final da etapa de digestão duodenal, de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Fração bioacessível (\%)} = \frac{\text{concentração do mineral na amostra após digestão duodenal}}{\text{concentração do mineral na amostra não digerida}} \times 100 \quad (1)$$

2.4 DETERMINAÇÃO DE MINERAIS POR CE-DAD

A determinação dos cátions K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, e Mn²⁺ nas amostras de méis no “tempo zero” e estocados, antes e após a digestão *in vitro*, foi realizada de acordo com o método desenvolvido por Rizelio et al. (2012) com modificações por Seraglio et al. (2017), empregando um sistema de CE Agilent 7100 (Agilent Technologies, Alemanha) acoplado ao DAD. Neste sistema, um capilar de sílica fundida (Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, E.U.A.) com 48,5 cm (40 cm comprimento efetivo e 75 µm diâmetro interno) foi utilizado. Antes das análises, o capilar foi sequencialmente condicionado com NaOH 1 mol L⁻¹ durante 20 min, 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 novamente condicionado com solução de BGE por 2 min. O BGE foi constituído por 30 mmol L⁻¹ de imidazol, 300 mmol L⁻¹ de ácido acético e 140 mmol L⁻¹ de ácido láctico (pH 3,0).

A injeção das amostras e padrões foi realizada hidrodinamicamente, com pressão de 50 mbar por 3 s, pela extremidade mais longa do capilar (*inlet*), sob tensão de separação de 15 kV, com polaridade positiva. A detecção dos analitos foi realizada de modo indireto, por meio do ajuste do detector em 215 nm com referência de 450 nm para inversão de pico. A temperatura do sistema foi controlada a 20 °C. A aquisição e tratamento dos dados foi realizado com o *software* HP ChemStation, rev. A.06.01.

Para a quantificação, curvas analíticas foram construídas em seis de níveis de concentração, equidistantes, variando de 117 a 586 mg L⁻¹ para potássio; 2,00 a 60,1 mg L⁻¹ para cálcio; 1,21 a 18,2 mg L⁻¹ para magnésio; 1,15 a 34,5 mg L⁻¹ para sódio; e 0,550 a 5,50 mg L⁻¹ para manganês. Os resultados para K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ e Mn²⁺ encontrados nas amostras foram expressos em mg kg⁻¹ de mel.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises foram realizadas em duplicata e as concentrações determinadas foram expressas como média ± desvio padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias por teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. *Statistica 13.0* (licença adquirida pela UFSC) e Microsoft Excel 2010 foram os programas estatísticos utilizados para os tratamentos acima citados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CONTEÚDO DE MINERAIS LIVRES

A Tabela 2.1 mostra o teor de minerais quantificados nas amostras de méis de melato de bracatinga no T0 e estocados ao longo de 8, 16 e 24 meses em temperatura ambiente e por 4 meses à 40 °C.

Tabela – 2.1 Concentrações de potássio (mg kg^{-1}) em amostras de mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham) submetidas à diferentes condições de armazenamento.

Mineral	Município	Armazenamento				
		Tempo 0	8 meses (TA)	16 meses (TA)	24 meses (TA)	4 meses (40 °C)
K^+	Bocaina do Sul	$5538,2 \pm 24,6^b$	$5946,5 \pm 190,7^a$	$6071,1 \pm 46,4^a$	$6266,0 \pm 57,7^a$	$5957,8 \pm 27,2^a$
	Lages	$6053,6 \pm 79,1^a$	$5804,1 \pm 14,1^a$	$6163,4 \pm 296,4^a$	$6026,9 \pm 0,2^a$	$5858,4 \pm 16,2^a$
	Urupema	$6541,7 \pm 79,1^a$	$6648,8 \pm 228,3^a$	$6489,7 \pm 272,4^a$	$6260,4 \pm 224,1^a$	$6778,6 \pm 1,3^a$
Mg^{2+}	Bocaina do Sul	$50,9 \pm 0,8^a$	$52,8 \pm 2,2^a$	$49,4 \pm 1,7^a$	$47,2 \pm 1,9^a$	$50,5 \pm 0,2^a$
	Lages	$56,1 \pm 1,6^{bc}$	$61,8 \pm 1,0^a$	$60,4 \pm 1,1^{ab}$	$54,5 \pm 0,1^c$	$59,4 \pm 1,3^{ab}$
	Urupema	$47,8 \pm 2,6^a$	$47,6 \pm 0,9^a$	$52,4 \pm 1,4^a$	$50,3 \pm 1,0^a$	$48,7 \pm 1,2^a$
Ca^{2+}	Bocaina do Sul	$23,2 \pm 0,3^a$	$24,7 \pm 0,7^a$	$23,0 \pm 0,1^a$	$18,5 \pm 0,8^b$	$18,8 \pm 0,2^b$
	Lages	$59,1 \pm 1,3^a$	$40,5 \pm 0,1^b$	$35,6 \pm 0,6^c$	$29,7 \pm 0,7^d$	$27,9 \pm 0,5^d$
	Urupema	$44,8 \pm 1,5^a$	$43,5 \pm 1,6^a$	$33,1 \pm 0,2^b$	$29,0 \pm 1,5^b$	$28,1 \pm 1,3^b$
Na^+	Bocaina do Sul	$1,7 \pm 0,0^d$	$2,8 \pm 0,0^b$	$2,4 \pm 0,1^c$	$2,4 \pm 0,1^c$	$3,2 \pm 0,1^a$
	Lages	$4,4 \pm 0,2^a$	$4,0 \pm 0,1^{ab}$	$4,1 \pm 0,1^{ab}$	$3,8 \pm 0,2^{bc}$	$3,3 \pm 0,1^c$
	Urupema	$5,9 \pm 0,3^{ab}$	$5,0 \pm 0,2^b$	$5,6 \pm 0,2^{ab}$	$6,3 \pm 0,3^a$	$6,0 \pm 0,1^a$

Legenda: TA – Temperatura ambiente; dados expressos como média \pm desvio padrão; ($n = 2$); ^{a-d} letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha, para cada município, indicam diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ), respectivamente, dos cátions investigados: 3,17 e 10,55 mg L^{-1} para K^+ ; 1,17 e 3,91 mg L^{-1} para Ca^{2+} ; 0,31 e 1,05 mg L^{-1} para Na^+ ; 0,42 e 1,42 mg L^{-1} para Mg^{2+} ; 0,27 e 0,91 mg L^{-1} para Mn^{2+} .

Fonte: Próprio autor (2022).

Potássio foi o mineral mais abundante entre as amostras, com teores variando entre $5538,2 \pm 24,6$ a $6778,6 \pm 1,3$ mg kg⁻¹, seguido pelo magnésio ($47,2 \pm 1,9$ a $61,8 \pm 1,0$ mg kg⁻¹), cálcio ($18,5 \pm 0,8$ a $59,1 \pm 1,3$ mg kg⁻¹) e sódio ($1,7 \pm 0,0$ a $6,3 \pm 0,3$ mg kg⁻¹). Em todas as condições de armazenamento avaliadas, o manganês apresentou-se abaixo do limite de detecção do método ($< 0,9$ mg kg⁻¹). As concentrações dos minerais encontradas no T0 estão em concordância com os resultados encontrados para méis de melato da Croácia, Sérvia, Hungria, Espanha e Brasil (BERGAMO et al., 2018; JARA-PALACIOS et al., 2019; LOVAKOVIĆ et al., 2018; MRAČEVIĆA et al., 2020; SAJTOS et al., 2019).

De modo geral, as diferentes condições de armazenamento não influenciaram na estabilidade dos minerais potássio e magnésio, mas causaram efeitos significativos ($p < 0,05$) para sódio e cálcio (Tabela 2.1). Para o sódio, as variações observadas não geraram uma tendência clara (aumento ou redução). No entanto, foi possível verificar uma redução na concentração de cálcio ao longo do armazenamento (até 49,8%) e nas amostras submetidas à temperatura de 40 °C (52,8%). Esses resultados são semelhantes ao trabalho de Seraglio et al. (2021b), em que foi verificada a estabilidade das concentrações de potássio, magnésio e sódio e a tendência a redução do cálcio após 24 meses de armazenamento à temperatura ambiente para amostras de mel de melato de bracatinga obtidas na mesma safra (ano de 2016). Ainda, é possível que as transformações que ocorrem na composição do mel ao longo armazenamento causem mudanças na concentração catiônica de sódio, o que pode explicar a variação observada no presente estudo.

Assim, potássio e magnésio podem ser considerados como minerais estáveis nas diferentes condições as quais as amostras foram submetidas. Enquanto isso, os minerais sódio e, principalmente o cálcio podem estar participando de complexos com outros constituintes da matriz, como estruturas proteicas (aminoácidos, peptídeos, proteínas), ácidos orgânicos e compostos fenólicos (SERGIEL & POHL, 2010) ou ainda com compostos resultantes do armazenamento ou aquecimento prolongado do mel, como os produtos da reação de *Maillard* (MRPs) (YANG et al., 2019).

3.2 BIOACESSIBILIDADE

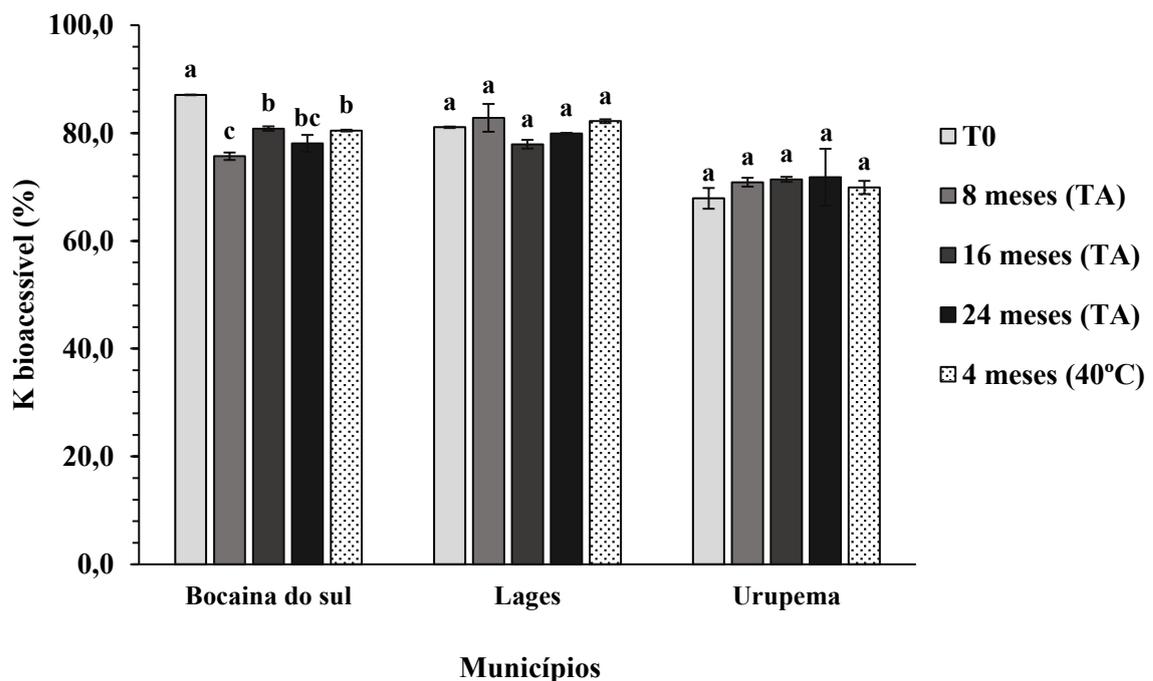
Após o processo de digestão *in vitro*, não foi possível avaliar a bioacessibilidade de sódio. Apesar da condução em paralelo da amostra branco, a influência das concentrações desse íon nas soluções de digestão, juntamente com as baixas concentrações desse mineral nos méis avaliados impossibilitaram a determinação do teor de sódio nas amostras de mel digeridas.

Ainda, o manganês permaneceu abaixo do limite de detecção do método ($< 0,9 \text{ mg kg}^{-1}$) após aplicação do protocolo de digestão *in vitro*.

3.2.1 Potássio

A bioacessibilidade do potássio nas amostras de mel de melato de bracatinga no T0 e armazenados ao longo de 8, 16 e 24 meses em temperatura ambiente e por 4 meses a 40°C é mostrada na Figura 2.3 e apêndice A.

Figura 2.3 – Influência do armazenamento na bioacessibilidade de potássio no mel de melato de bracatinga armazenado após 8, 16 e 24 meses a temperatura ambiente e após 4 meses a 40°C .



Legenda: T0 – “Tempo zero”; TA – Temperatura ambiente; barras indicam o desvio padrão das médias; ($n = 2$); ^{a-d} letras diferentes para cada amostra indicam diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor (2022).

Para todas as amostras e condições de armazenamento, a aplicação da digestão *in vitro* ocasionou a redução do conteúdo do potássio, resultando em frações bioacessíveis de $67,9 \pm 1,9$ a $87,1 \pm 0,1\%$ (Figura 2.3 e apêndice A). Esses resultados contrapõem aos observados para méis de abelhas sem ferrão frescos (BILUCA et al., 2017) e méis de melato de bracatinga colhidos na safra de 2014 (SERAGLIO et al., 2017), no qual ambos obtiveram frações

bioacessíveis superiores a 90% em ambos os estudos, sugerindo que o potássio está presente no mel em sua forma livre e que são facilmente solúveis após a digestão *in vitro*. Por outro lado, o conhecimento sobre os reais fatores que impactam a bioacessibilidade *in vitro* do potássio dietético são escassos (NAISMITH & BRASCHI, 2008; SILVA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2020). O íon potássio pode interagir eletrostaticamente com compostos orgânicos (SABBOH-JOURDAN et al., 2011) e estruturas proteicas (aminoácidos, peptídeos e proteínas) (HARDING, 2002; RODRIQUEZ et al., 2000) que estão presentes no mel e, desse modo, influenciariam na bioacessibilidade do potássio. Além disso, também é possível supor que os macronutrientes circundantes na matriz, como os carboidratos do mel, formem barreiras físicas que impedem a liberação dos minerais (SERAGLIO et al., 2021c; ROUSSEAU et al. 2020a). Nesse sentido, o alto teor de açúcares no mel poderia influenciar na solubilização do potássio ao longo da digestão *in vitro*, mas são necessários novos estudos para avaliar melhor essa hipótese.

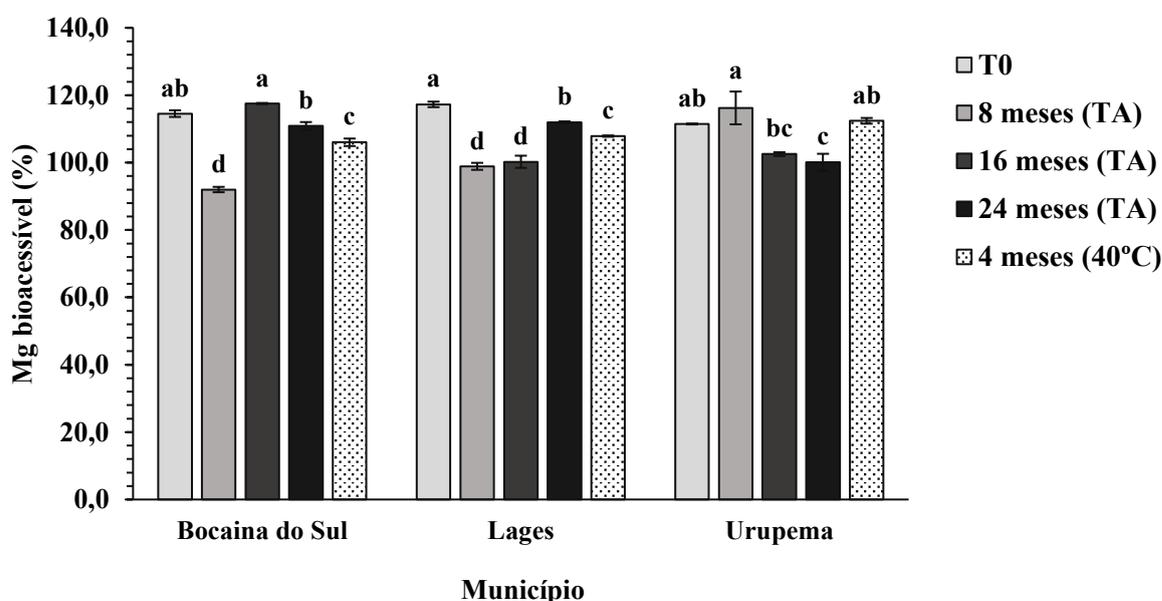
Apesar do armazenamento não ter alterado significativamente as concentrações de potássio nas amostras de mel de melato de bracinga avaliadas, este ainda pode ser um fator determinante após a aplicação do processo de digestão *in vitro*. De acordo com a Figura 2.3, o armazenamento não demonstrou efeito significativo na bioacessibilidade do potássio para as amostras de Lages e Urupema ($p < 0,05$) (Figura 2.3). No entanto, para o mel de Bocaina do Sul, todas as condições de armazenamento ocasionaram uma diminuição significativa ($p < 0,05$) de até 11,4% em relação à fração bioacessível inicial ($87,1 \pm 0,1$ % no T0) (Apêndice A). Para essa amostra, o armazenamento a longo prazo a temperatura ambiente (após 24 meses) e por 4 meses a 40 °C apresentaram o mesmo efeito. Considerando que a composição do mel pode variar em função da origem geográfica (AZEVEDO et al., 2021a; 2021b), as possíveis causas que diminuem a concentração de potássio (interações eletrostáticas e/ou barreiras físicas com os componentes da matriz), também podem atuar de diferentes formas entre as amostras armazenadas.

Ainda, é importante destacar que esses resultados agregam valor científico nesse campo do conhecimento, pois, até o momento, não se encontram dados na literatura que tratem da influência do armazenamento de alimentos consumidos *in natura*, como o mel, na bioacessibilidade do potássio.

3.2.2 Magnésio

A bioacessibilidade do magnésio em amostras de mel de melato de bracatinga no T0 e armazenados ao longo de 8, 16 e 24 meses em temperatura ambiente e por 4 meses à 40 °C está apresentada na Figura 2.4 e apêndice A.

Figura 2.4 – Influência do armazenamento na bioacessibilidade de magnésio no mel de melato de bracatinga armazenado após 8, 16 e 24 meses em temperatura ambiente e após 4 meses a 40 °C.



Legenda: T0 – “Tempo zero”; TA – Temperatura ambiente; barras indicam o desvio padrão das médias; ($n = 2$); ^{a-d} letras diferentes para cada amostra indicam diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor (2022).

Conforme observado na Figura 2.4, e considerando todas as amostras e condições de armazenamento investigadas, a bioacessibilidade do magnésio variou entre $92,0 \pm 0,8$ a $117,5 \pm 0,8$ % (Apêndice A). Elevados valores de bioacessibilidade desse elemento também foram reportados para méis de melato de bracatinga frescos da safra de 2014 ($99,7 - 108,9\%$) (SERAGLIO et al., 2017) e para méis de abelhas sem ferrão frescos ou de procedência desconhecida (acima de 84%) (BILUCA et al., 2017; POHL et al., 2012b).

Com relação ao estudo de armazenamento, é possível observar na Figura 2.4 que a bioacessibilidade do magnésio foi significativamente influenciada ($p < 0,05$), no entanto, diferentes comportamentos da fração bioacessível foram verificados entre as condições de investigadas, para cada amostra avaliada (Figura 2.4). Todas as amostras apresentaram valores

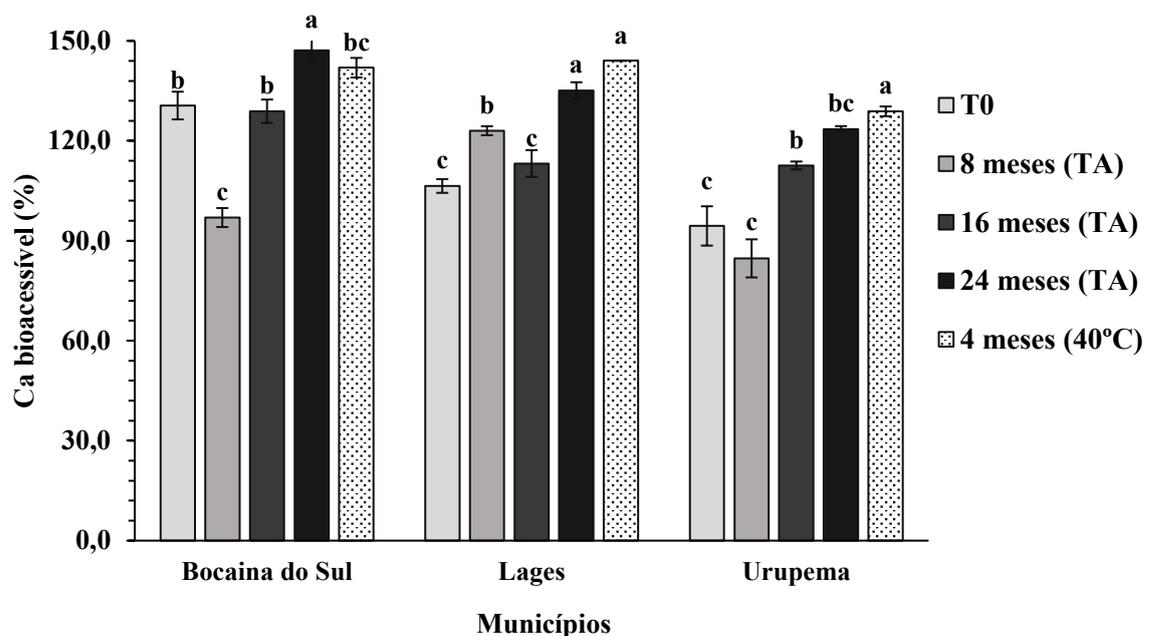
de bioacessibilidade acima de 100% ($117,3 \pm 0,8$ a $111,5 \pm 0,1$ %) na condição inicial de armazenamento (T0), mas reduziram significativamente (até 22,5 %) em condições específicas de armazenamento. Para a amostra de Bocaina do Sul, essa redução foi significativa ($p < 0,05$) após 8 meses (TA) e 4 meses (40 °C); em todas as condições, especialmente após 8 e 16 meses (TA) para o mel de Lages; e somente após 24 meses (TA) para o mel de Urupema. Todavia, para todas as amostras avaliadas, as frações bioacessíveis encontravam-se elevadas ($\geq 100\%$, Apêndice A) tanto após 24 meses (TA) quanto após 4 meses (40°) de armazenamento. Esses resultados indicam que, dependendo da condição de armazenamento, uma certa quantidade de magnésio potencialmente ligado pode ser hidrolisado após a digestão *in vitro*, resultando em frações bioacessíveis maiores que 100%; ou que novas ligações podem ser formadas durante esse processo, ocasionando uma redução na bioacessibilidade desse mineral.

O íon magnésio possui maior capacidade de ligação em comparação a metais alcalinos (sódio e potássio, por exemplo), devido a sua maior eletronegatividade (LEE, 1999; DE CASTILHO et al., 2018). Esse elemento pode formar complexos com proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos e compostos fenólicos que estão presentes no mel (SERGIEL & POHL, 2010). Além disso, a estabilidade de alguns desses potenciais ligantes pode ser afetada tanto pelo armazenamento quanto pela digestão *in vitro* do mel de melato de bracatinga (SERAGLIO et al., 2017; SERAGLIO et al., 2021b). Seraglio et al. (2017) verificou um aumento da concentração de compostos fenólicos (até 174,4%) após aplicação da digestão *in vitro* para amostras de Urupema, Urubici e Lages (safra de 2014) e isso pode favorecer a ligação do magnésio a esses compostos. Já em Seraglio et al. (2021b), o armazenamento a temperatura ambiente do mel de melato de bracatinga (safra de 2016) ocasionou a redução certos compostos fenólicos (até 50%), como crisina, kaempferol, naringenina, ácido cafeico, ácido ferúlico e 3,4-ácido hidroxibenzoico); o aumento da concentração de certos ácidos orgânicos alifáticos (até 53,8%) como o ácido glucônico, fórmico, cítrico, málico, succínico, glicólico, acético e láctico e diminuição do ácido glutárico (até 77,2%); além da redução dos aminoácidos ácido glutâmico (até 87,3%) e aspártico (até 37,4%). Além do tipo de ligante, variáveis como pH, solubilidade, temperatura e força iônica podem afetar a ligação ou dissociação do magnésio (CASE; ZUBIETA; DOYLE, 2020). Assim, os diversos modos e condições para a complexação do magnésio, associado às diferentes modificações que ocorrem nos constituintes da matriz de estudo (após a digestão *in vitro* ou armazenamento), podem explicar o comportamento variável da bioacessibilidade de magnésio observada neste estudo.

3.2.3 Cálcio

A bioacessibilidade de cálcio em amostras de mel de melato de bracatinga no T0 e armazenados ao longo de 8, 16 e 24 meses em temperatura ambiente e por 4 meses a 40 °C é mostrada na Figura 2.5 e apêndice A.

Figura 2.5 – Influência do armazenamento na bioacessibilidade do cálcio no mel de melato de bracatinga armazenado após de 8, 16 e 24 meses a temperatura ambiente e após 4 meses a 40 °C.



Legenda: T0 – “Tempo zero”; TA – Temperatura ambiente; barras indicam o desvio padrão das médias; ($n = 2$); ^{a-d} letras diferentes para cada amostra indicam diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor (2022).

De acordo com a Figura 2.5 e Apêndice A, a bioacessibilidade do cálcio variou entre $84,7 \pm 5,7$ a $147,2 \pm 3,4\%$, considerando todas as amostras e condições de armazenamento. Valores de bioacessibilidade acima de 100% também foram encontrados no estudo de Seraglio et al (2017), variando de 164 a 220% para em amostras de méis de melato de bracatinga frescos (safra de 2014) dos municípios de Urupema, Lages e Urubici.

Além disso, o armazenamento das amostras provocou um aumento significativo da bioacessibilidade de cálcio, sendo um efeito inverso ao observado para as concentrações não digeridas (seção 3.1). Apesar de ser verificada uma redução em condições específicas para as diferentes amostras, essa tendência é clara nas condições finais de armazenamento (após 16 e

24 meses de armazenamento a temperatura ambiente e após 4 de armazenamento a 40 °C, de acordo com a Figura 2.5). Tais resultados sugerem principalmente que os possíveis complexos formados ao longo do armazenamento do mel e que causam a redução da concentração catiônica (seção 3.1), parecem ser propícios à dissociação após a digestão *in vitro*, causando o aumento da bioacessibilidade.

Esses achados reforçam o possível envolvimento do íon cálcio em complexos com compostos orgânicos, como estruturas proteicas (aminoácidos e proteínas), ácidos orgânicos e compostos fenólicos (SERGIEL & POHL, 2010). Assim como para o magnésio, o íon cálcio é mais propenso à quelação devido sua eletronegatividade em comparação a cátions monovalentes com K^+ e Na^+ (LEE, 1999; DE CASTILHO et al., 2018), mas também dependerá de diferentes condições físico-químicas que podem favorecer ou não sua ligação durante a digestão *in vitro*. Desse modo, os fatores que afetam a estabilidade desses potenciais ligantes no mel de melato de bracinga, discutidas em detalhes anteriormente (seção 3.2.2), também podem ser aplicáveis ao cálcio.

No entanto, o possível envolvimento do cálcio com os MRPs, pode estar influenciando de forma mais acentuada e específica na bioacessibilidade do cálcio. Apesar dos MRPs terem apresentado um efeito negativo para a bioacessibilidade do cálcio em outras matrizes alimentares, seus reais efeitos ainda não foram devidamente esclarecidos (CILLA et al., 2018; SEIQUER et al., 2010). As melanoidinas, por exemplo, são moléculas produzidas durante o processo de escurecimento não enzimático do mel, através da reação de *Maillard*, podendo formar complexos com o cálcio a medida que são geradas (ALVES et al., 2021). No entanto, o processo digestivo pode atuar sobre as melanoidinas, liberando o mineral dessas estruturas (RENDLEMAN, 1987; ALVES et al., 2021). Essa hipótese, portanto, explicaria o aumento da bioacessibilidade do cálcio ao longo do armazenamento.

Adicionalmente, nesta pesquisa, foi analisada a fração livre/catiônica, a qual está prontamente disponível para ser absorvida no epitélio intestinal. No entanto, certas estruturas proteicas ligadas ao cálcio, como aminoácidos e alguns peptídeos também são formas assimiláveis no intestino e, nesse contexto, uma contribuição ainda maior de cálcio bioacessível pode estar envolvida (TANG & SKIBSTED, 2016).

4 CONCLUSÃO

Neste estudo, foi avaliada a influência de diferentes tempos e temperaturas de armazenamento na concentração total livre e na fração bioacessível de minerais, em amostras de melato de bracinga oriundas de diferentes municípios. Os resultados obtidos sugerem que as condições de armazenamento exercem impactos na bioacessibilidade dos minerais em méis, inclusive aqueles que apresentaram estabilidade antes da aplicação da digestão *in vitro*, como potássio e magnésio. Observou-se que a bioacessibilidade do cálcio aumentou ao longo do armazenamento. Ademais, a concentração do sódio foi influenciada pelo armazenamento, mas sua bioacessibilidade não foi avaliada devido aos elevados teores de sais de sódio envolvidos no protocolo de digestão *in vitro*.

Até o momento, este é o primeiro estudo que avalia a influência do armazenamento na bioacessibilidade de minerais em méis. Os dados explorados nesta pesquisa abrem um novo escopo de investigação nesse tipo de matriz, pois, até o momento, não se tem dados sobre a influência da temperatura ou tempo de armazenamento na bioacessibilidade de outros constituintes do mel, como compostos fenólicos, aminoácidos e proteínas. Os resultados gerados em pesquisas futuras podem auxiliar na fundamentação das hipóteses levantadas neste trabalho.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Primeiramente, cabe aqui justificar que alguns experimentos planejados foram reduzidos ou impossibilitados devido ao período pandêmico vivido. Por isso, somente uma parte das análises foi realizada.

Todavia, o presente trabalho aborda dados inéditos com relação a estudos de bioacessibilidade de compostos em méis, o que destaca sua relevância científica. Pela primeira vez, foi investigado o impacto de diferentes condições diferentes condições (8, 16 e 24 e meses a 23 °C e por 4 meses a 40 °C) de armazenamento na bioacessibilidade de minerais de importância nutricional/bioativa (especificamente cálcio, magnésio e potássio). Os resultados obtidos contribuem para a compreensão do comportamento desses constituintes no mel de melato de bracatinga, estimulando a realização de novos estudos com esta matriz.

Para tanto, a avaliação dos minerais totais nas amostras investigadas ainda é necessário. Procedimentos de abertura de amostra viabiliza a estimativa da quantidade de mineral ligado e livre, além de possibilitar avaliação dos efeitos de diferentes fases da digestão *in vitro* para o comportamento bioacessível de minerais e assim gerar explicações mais conclusivas. Isto posto, ressalta-se que tais estratégias já estão sendo executadas no Laboratório de Química de Alimentos.

Além disso, destaca-se que a avaliação da bioacessibilidade de outros elementos minerais de importância bioativa ou toxicológica ainda não foi investigada no mel de melato de bracatinga. Ainda, novas estratégias analíticas podem ser empregadas para possibilitar a avaliação da bioacessibilidade do mineral sódio, assim como permitir a quantificação do manganês.

REFERÊNCIAS

- 45th Apimondia - International Apicultural Congress.** Disponível em: <http://www.apimondia2017.org>>. Acesso em: 10 jun 2021.
- ABEMEL – Associação Brasileira dos Exportadores de Mel. (2020). Dados Estatísticos do Mercado de Mel 2016 a 2020. Disponível em: [https://www.brazilletsbee.com.br/ABEMEL%20-%20Dados%20Estatisticos%20-%202016-2020%20\(Outubro21\).pdf](https://www.brazilletsbee.com.br/ABEMEL%20-%20Dados%20Estatisticos%20-%202016-2020%20(Outubro21).pdf). Acesso em: 24 fev. 2022.
- AFRIN, S. et al. The inhibitory effect of Manuka honey on human colon cancer HCT-116 and LoVo cell growth. Part 1: the suppression of cell proliferation, promotion of apoptosis and arrest of the cell cycle. **Food & function**, v. 9, n. 4, p. 2145-2157, 2018.
- AGROSTAT – Secretaria de Comércio Exterior. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior/ Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. MDIC/MAPA. Agrostat. Disponível em: <http://indicadores.agri-cultura.gov.br/agrostat/index.htm>. Acesso em: 11 jun, 2021.
- ALEGRÍA, A.; GARCIA-LLATAS, G.; CILLA, A. Static digestion models: General introduction. In: **The impact of food bioactives on health: *in vitro* and ex vivo models**. Cham, Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer, 2015.
- AL-HATAMLEH, M. A. et al. Antiviral and immunomodulatory effects of phytochemicals from honey against COVID-19: Potential mechanisms of action and future directions. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 5017, 2020.
- 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.
- ALQARNI, A. S. et al. Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, n. 5, p. 618-625, 2014.
- ALVES, G. et al. Bioaccessibility and gut metabolism of free and melanoidin-bound phenolic compounds from coffee and bread. **Frontiers in nutrition**, v. 8, 2021.
- ANAND, S. et al. Antimicrobial activity of Agastache honey and characterization of its bioactive compounds in comparison with important commercial honeys. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 263, 2019.
- AZEVEDO, M. S. et al. Free amino acid determination by GC-MS combined with a chemometric approach for geographical classification of bracatinga honeydew honey (*M. scabrella* Bentham). **Food Control**, v. 78, p. 383-392, 2017b.
- AZEVEDO, M. S. et al. Physicochemical properties and biological activities of bracatinga honeydew honey from different geographical locations. **Journal of Food Science and Technology**, p. 1-13, 2021.
- AZEVEDO, M. S. et al. Proteome comparison for discrimination between honeydew and floral honeys from botanical species *M. scabrella* Bentham by principal component analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 13, p. 4515-4519, 2017a.
- BECKERS, J. L.; BOČEK, P. The preparation of background electrolytes in capillary zone electrophoresis: Golden rules and pitfalls. **Electrophoresis**, v. 24, p. 518–535, 2003.

- 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.
- BERGAMO, G. et al. Mineral profile as a potential parameter for verifying the authenticity of bracatinga honeydew honeys. **LWT**, 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. Use of visible spectrophotometric fingerprint and chemometric approaches for the differentiation of *M. scabrella* Bentham honeydew honey. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 11, p. 3966-3972, 2020.
- BETTAR, I. et al. Characterisation of Moroccan Spurge (*Euphorbia*) honeys by their physicochemical characteristics, mineral contents and colour. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 2052–2060, 2019.
- BILUCA, F. C. et al. Investigation of phenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory activities in stingless bee honey (*Meliponinae*). **Food Research International**, v. 129, p. 108756, 2020.
- 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.
- BOLAND, M. Human digestion—a processing perspective. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 7, p. 2275-2283, 2016.
- BRAGHINI, F. et al. Effect thermal processing in the honey of *Tetragonisca angustula*: profile physicochemical, individual phenolic compounds and antioxidant capacity. **Journal of Apicultural Research**, p. 1-7, 2020.
- 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.
- BRODKORB, A. et al. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature protocols**, v. 14, n. 4, p. 991-1014, 2019.
- 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, 2019b.
- BUTTERWORTH, P. J.; WARREN, F. J.; ELLIS, P. R. Human α -amylase and starch digestion: An interesting marriage. **Starch**, v. 63, n. 7, p. 395-405, 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.
- CARDOSO, C. et al. Bioaccessibility assessment methodologies and their consequences for the risk–benefit evaluation of food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 41, n. 1, p. 5-23, 2015.
- CASE, D. R.; ZUBIETA, J.; P DOYLE, R. The Coordination Chemistry of Bio-Relevant Ligands and Their Magnesium Complexes. **Molecules**, v. 25, n. 14, p. 3172, 2020.

- 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.
- CIANCIOSI, D. et al. Effect of *in vitro* gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity of manuka honey. **eFood**, v. 1, n. 1, p. 85-93, 2020b.
- CIANCIOSI, D. et al. The influence of *in vitro* gastrointestinal digestion on the anticancer activity of manuka honey. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 64, 2020a.
- CILLA, A. et al. Effect of processing on the bioaccessibility of bioactive compounds—a review focusing on carotenoids, minerals, ascorbic acid, tocopherols and polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 68, p. 3-15, 2018.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex Standard for Honey, CODEX STAN 12-1981**. Roma (Itália): Codex Alimentarius, 2001.
- COLOMBARA, R.; TAVARES, M. F. M.; MASSARO, S.; Determinação Simultânea de Ânions por Eletroforese Capilar: Características e Aplicações. **Química Nova**, v. 20, p. 512-518, 1997.
- CONTI, M. E. et al. Characterization of Italian multifloral honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 74, n. August, p. 102–113, 2018.
- DA SILVA, P. M. et al. Stability of Brazilian *Apis mellifera* L. honey during prolonged storage: Physicochemical parameters and bioactive compounds. **LWT**, v. 129, p. 109521, 2020b.
- DA SILVA, P. M. et al. Stability of volatile compounds of honey during prolonged storage. **Journal of food science and technology**, v. 57, n. 3, p. 1167-1182, 2020a.
- DA SILVA, Priscila Missio et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food chemistry**, v. 196, p. 309-323, 2016.
- 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.
- DAHMER, N. et al. “Bracatinga” (*M. scabrella* Benth), 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.
- DE CASTILHO, T. S. et al. Study of interaction between metal ions and quercetin. **Food Science and Human Wellness**, v. 7, n. 3, p. 215-219, 2018.
- DENG, J. et al. Biochemical properties, antibacterial and cellular antioxidant activities of buckwheat honey in comparison to manuka honey. **Food Chemistry**, v. 252, n. December 2017, p. 243–249, 2018.
- DIMA, C. et al. Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by *in vitro* methods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 6, p. 2862-2884, 2020.
- DORTZBACH, D. et al. Influência do meio geográfico nas características do mel de melato da bracatinga. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, e198997191, 2020.

- DORTZBACH, D.; VIEIRA, E.; VIEIRA, V. F.; TRABAQUINI, K. **A importância do associativismo para a indicação geográfica – mel de melato**. In: XXII Congresso Brasileiro de Apicultura e VII Congresso Brasileiro de Meliponicultura. Joinville, Santa Catarina, 16 a 19 de maio de 2018. Anais... Joinville, SC, 2018.
- DOURADO, G. S. et al. Determination of macro and trace element levels in honey from the lower amazonian region, Brazil. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, v. 6, n. 23, p. 29–44, 2019.
- DŹUGAN, M. et al. Physicochemical quality parameters, antibacterial properties and cellular antioxidant activity of Polish buckwheat honey. **Food Bioscience**, v. 34, p. 100538, 2020.
- EGGER, Lotti et al. The harmonized INFOGEST *in vitro* digestion method: From knowledge to action. **Food Research International**, v. 88, p. 217-225, 2016.
- EL-KASED, R. F. et al. Honey-based hydrogel: *in vitro* and comparative *in vivo* evaluation for burn wound healing. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.
- EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. (2021). Santa Catarina conquista Indicação Geográfica do Mel de Melato da Bracatinga. Disponível em: <https://www.epagri.sc.gov.br/index.php/2021/07/20/santa-catarina-conquista-indicacao-geografica-do-mel-de-melato-da-bracatinga/>. Acesso em: 15 fev. 2022.
- 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.; 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.
- ESTEVINHO, L. et al. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 12, p. 3774-3779, 2008.
- 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, p. 317, 2012.
- FAO – ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. Faostat. 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: 24 fev. 2022.
- FEÁS, X. et al. Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 12, p. 3462–3470, 2010.
- FEBRIYENTI, F. et al. Wound-healing effect of honey gel and film. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, v. 11, n. 2, p. 176, 2019.
- FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed., Porto Alegre (Rio Grande do Sul): Artmed, 2010.
- FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; CARVAJAL-LÉRIDA, I.; PÉREZ-GÁLVEZ, A. *In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. **Nutrition research**, v. 29, n. 11, p. 751-760, 2009.
- FERREIRA, I. et al. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1438-1443, 2009.

FONSECA, Iolanda. Santa Catarina Honey Voted Best in the World for the Fifth Time. **The Rio Times/The Brazil News Agency**, 2019. Disponível em: <https://www.riotimesonline.com/brazil-news/brazil/santa-catarina-honey-voted-best-in-the-world-for-the-fifth-time/>. Acesso em: 24 fev. 2022.

FREITAS, C. A. **Doce e lucrativo negócio**. *Agropecuária Catarinense*, v. 24, n. 2, p. 21-26, 2011.

GALANAKIS, C. M. **Nutraceutical and Functional Food Components: Effects of Innovative Processing Techniques**. London, United Kingdom: Elsevier Inc., 2017.

GHARIBZAHEDI, S. M. T.; JAFARI, S. M. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 62, p. 119-132, 2017.

GHOSH, N. et al. Synthesis, characterization and study of antioxidant activity of quercetin–magnesium complex. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 151, p. 807-813, 2015.

GOMES, V. V. et al. Evaluation of the Quality of Honey Commercialized in Western Pará, Brazil. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 815-826, 2017.

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.

GÜL, A.; PEHLIVAN, T. Antioxidant activities of some monofloral honey types produced across Turkey. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 6, p. 1056-1065, 2018.

GWALA, S. et al. Ageing, dehulling and cooking of Bambara groundnuts: consequences for mineral retention and *in vitro* bioaccessibility. **Food & Function**, v. 11, n. 3, p. 2509-2521, 2020.

HARDING, M. M. Metal–ligand geometry relevant to proteins and in proteins: sodium and potassium. **Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography**, v. 58, n. 5, p. 872-874, 2002.

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.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, **Produção de origem animal, por tipo de produto (mel de abelha)**. IBGE – Pesquisa de Pecuária Municipal. Disponível em < <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/74#resultado> >. Acesso em 24 fev. 2022.

JAGER, A. V.; TAVARES, Marina FM. Determinação simultânea de cátions por eletroforese capilar: fundamentos e aplicações. **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 363-373, 2001.

JARA-PALACIOS, M. J. et al. Physicochemical properties, colour, chemical composition, and antioxidant activity of Spanish Quercus honeydew honeys. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 9, p. 2017-2026, 2019.

KARABAGIAS, I. K. et al. Nutritional aspects and botanical origin recognition of Mediterranean honeys based on the “mineral imprint” with the application of supervised and non-supervised statistical techniques. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 9, p. 1939–1949, 2019.

- KEK, S. P. et al. Classification of Honey from Its Bee Origin via Chemical Profiles and Mineral Content. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 1, p. 19–30, 2017.
- KLOSOWSKI, A. L. M.; KUASOSKI, M.; BONETTI, M. B. P. Apicultura brasileira: inovação e propriedade industrial. **Revista de Política Agrícola**, v. 29, n. 1, p. 41, 2020.
- LANDERS, J. P. **Handbook of Capillary and Microchip Electrophoresis and Associated Microtechniques**. 1543p. 2008.
- LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. Tradução da 5ª ed. inglesa. Editora Edgard Blücher Ltda. pp. 24, 217, 360-370. 1999.
- LI, C. et al. Current *in vitro* digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract. **Trends in Food Science & Technology**, v. 96, p. 114-126, 2020.
- LOUPPIS, A. P. et al. Botanical discrimination of Greek unifloral honeys based on mineral content in combination with physicochemical parameter analysis, using a validated chemometric approach. **Microchemical Journal**, v. 135, p. 180–189, 2017.
- LOVAKOVIĆ, T. B. et al. Multi-elemental composition and antioxidant properties of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honey from the coastal region of Croatia: Risk-benefit analysis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 45, n. September 2017, p. 85–92, 2018.
- MAJTANOVA, N. et al. Complementary treatment of contact lens-induced corneal ulcer using honey: a case report. **Contact Lens and Anterior Eye**, v. 38, n. 1, p. 61-63, 2015.
- MALDONADO-VALDERRAMA, J. et al. The role of bile salts in digestion. **Advances in colloid and interface science**, v. 165, n. 1, p. 36-46, 2011.
- MĂRGĂOAN, R. et al. Monofloral Honeys as a Potential Source of Natural Antioxidants, Minerals and Medicine. **Antioxidants**, v. 10, n. 7, p. 1023, 2021.
- MARQUELE-OLIVEIRA, F. et al. Fundamentals of Brazilian honey analysis: an overview. **Honey Analysis. InTech**, p. 139-170, 2017.
- MARTINOTTI, S. et al. Manuka honey induces apoptosis of epithelial cancer cells through aquaporin-3 and calcium signaling. **Life**, v. 10, n. 11, p. 256, 2020.
- MARTINS, M.; ORTH, A. I.; NARDI, C. Interações entre *Apis mellifera* e as cochonilhas *Tachardiella* sp. (homoptera: lacifferidae) em bracatinga (*M. 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.
- MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. **Bracatinga, Mimosa scabrella Bentham: cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis (Santa Catarina): Epagri, 2014.
- MILLER, D. D. Minerais. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 409 – 444.
- MILLER, G. D.; JARVIS, J. K.; MCBEAN, L. D. The importance of meeting calcium needs with foods. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 168S-185S, 2001.
- MINEKUS, M. et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. **Food & function**, v. 5, n. 6, p. 1113-1124, 2014.
- MOREIRA, P. A. et al. Genetic diversity and mating system of bracatinga (*M. scabrella*) in a re-emergent agroforestry system in southern Brazil. **Agroforest Systems**, v. 83, p. 245-256, 2011.

- NAISMITH, D. J.; BRASCHI, A. An investigation into the bioaccessibility of potassium in unprocessed fruits and vegetables. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 59, n. 5, p. 438-450, 2008.
- NAYIK, G. A.; ISHRAT, N Y.; NANDA, M. V. 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.
- NETO, W. M. O.; PAIVA, R. N.; NOVAIS, J. S. "Honey is Good for Health": Patterns of honey purchasing and consumption in Lower Amazon. **Consumer Behavior Review**, v. 4, n. 3, p. 324-336.
- 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.
- O'BRIEN, J.; MORRISSEY, P. A. Metal ion complexation by products of the Maillard reaction. **Food Chemistry**, v. 58, n. 1-2, p. 17-27, 1997.
- OOMEN, A. G. et al. Comparison of five *in vitro* digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. **Environmental science & technology**, v. 36, n. 15, p. 3326-3334, 2002.
- PALIERSE, E. et al. Interactions of Calcium with Chlorogenic and Rosmarinic Acids: An Experimental and Theoretical Approach. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 14, p. 4948, 2020.
- PARADA, J.; AGUILERA, J. M. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. **Journal of food science**, v. 72, n. 2, p. R21-R32, 2007.
- PAULA, M. F. de et al. Análise da competitividade das exportações brasileiras de mel natural, segundo o modelo constant market share e o índice de vantagem comparativa revelada. **Revista Ceres**, v.63, p.614-620, 2016.
- PERNA, A. et al. Metal content of southern Italy honey of different botanical origins and its correlation with polyphenol content and antioxidant activity. **International journal of food science & technology**, v. 47, n. 9, p. 1909-1917, 2012.
- PERNA, A. M. et al. Minerals content in Basilicata region (southern Italy) honeys from areas with different anthropic impact. **International Journal of Food Science and Technology**, p. 1-8, 2021.
- 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. et al. Bioaccessibility of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn and Zn from commercial bee honeys. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 392-396, 2012b.
- 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, 2012a.
- POHL, P.; SERGIEL, I. Direct determination of the total concentrations of copper, iron and manganese and their fractionation forms in freshly ripened honeys by means of flame atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, v. 168, n. 1, p. 9-15, 2010.

- RAES, K. et al. Role of processing on bioaccessibility of minerals: Influence of localization of minerals and anti-nutritional factors in the plant. **Trends in Food Science & Technology**, v. 37, n. 1, p. 32-41, 2014.
- RENDLEMAN JR, J. A. Complexation of calcium by melanoidin and its role in determining bioavailability. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 6, p. 1699-1705, 1987.
- RIBEIRO, T. B. et al. Simulated digestion of an olive pomace water-soluble ingredient: relationship between the bioaccessibility of compounds and their potential health benefits. **Food & function**, v. 11, n. 3, p. 2238-2254, 2020.
- RIZELIO, V. M. **Caracterização química do mel catarinense: composição, atividade antioxidante e o uso da eletroforese capilar como alternativa na avaliação da qualidade**. 2011. 139p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Oeste do Pará, Florianópolis, 2011.
- 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, 2012.
- RIZELIO, Viviane Maria et al. Physicochemical and bioactive properties of Southern Brazilian *Apis mellifera* L. honeys. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 5, p. 910-916, 2020.
- 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, n. June, p. 124979, 2019.
- RODRIQUEZ, C. F. et al. Formation of $[M - n H^+ m Na](m - n)^+$ and $[M - n H^+ m K](m - n)^+$ ions in electrospray mass spectrometry of peptides and proteins. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 11, n. 11, p. 967-975, 2000.
- ROUSSEAU, S. et al. Barriers impairing mineral bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods and the perspectives for food processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 5, p. 826-843, 2020a.
- ROUSSEAU, S. et al. The impact of postharvest storage and cooking time on mineral bioaccessibility in common beans. **Food & Function**, v. 11, n. 9, p. 7584-7595, 2020b.
- SABBOH-JOURDAN, Houda et al. Organic acid bioavailability from banana and sweet potato using an *in vitro* digestion and Caco-2 cell model. **European journal of nutrition**, v. 50, n. 1, p. 31-40, 2011.
- SAJTOS, Z. et al. Elemental analysis of Hungarian honey samples and bee products by MP-AES method. **Microchemical Journal**, v. 149, n. February, p. 103968, 2019.
- SAJTOS, Z.; ANDRASI, M.; GASPAR, A. Analysis of honey using capillary electrophoresis with electrokinetic injection–Direct analysis of viscous samples without sample pretreatment. **Journal of Chromatography B**, v. 1142, p. 122052, 2020.
- SAKAČ, M. B. et al. Physicochemical properties and mineral content of honey samples from Vojvodina (Republic of Serbia). **Food Chemistry**, v. 276, n. July 2018, p. 15–21, 2019.
- SAMSONOWICZ, M.; REGULSKA, E.; KALINOWSKA, M. Hydroxyflavone metal complexes-molecular structure, antioxidant activity and biological effects. **Chemico-biological interactions**, v. 273, p. 245-256, 2017.
- SANTA CATARINA. **Síntese Anual da Agricultura em Santa Catarina**. Florianópolis: EPAGRI/CEPA, v.1. p. 160-164, 2019.

- SANT'ANA, L. D.'O. et al. Characterization of monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity. **Journal of food science**, v. 77, n. 1, p. C135-C140, 2012.
- ŠEDÍK, P. et al. Mineral content as an aspect of nutrition marketing: Case study of honey market in Slovakia. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 59, n. 3, p. 185–192, 2020.
- SEIQUER, I. et al. Assessing the effects of severe heat treatment of milk on calcium bioavailability: *in vitro* and *in vivo* studies. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 12, p. 5635-5643, 2010.
- SERAGLIO, S. K. T. et al. Aliphatic organic acids as promising authenticity markers of bracatinga honeydew honey. **Food Chemistry**, v. 343, p. 128449, 2021a.
- 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.
- SERAGLIO, S. K. T. et al. Current status of the gastrointestinal digestion effects on honey: A comprehensive review. **Food Chemistry**, p. 129807, 2021c.
- 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 *M. scabrella* Bentham honeydew honeys. **Food research international**, v. 99, p. 670-678, 2017.
- SERAGLIO, S. K. T. et al. Effect of long-term and heating storage on honey visible spectrum: an alternative parameter for quality monitoring of bracatinga honeydew honey. **Journal of food science and technology**, v. 58, n. 12, p. 4815-4822, 2021d.
- SERAGLIO, S. K. T. et al. Quality changes during long-term storage of a peculiar Brazilian honeydew honey: "Bracatinga". **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 97, p. 103769, 2021b.
- SERAGLIO, S. K. T. **Mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham): bioacessibilidade e estabilidade química e bioativa**. 2020. 213p. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Oeste do Pará, Florianópolis, 2020.
- SERGIEL, I.; POHL, P. Determination of the total content of calcium and magnesium and their bioavailability in ripened bee honeys. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 13, p. 7497-7501, 2010.
- SHAHZAD, A.; COHRS, R. J. *In vitro* antiviral activity of honey against varicella zoster virus (VZV): A translational medicine study for potential remedy for shingles. **Translational biomedicine**, v. 3, n. 2, 2012.
- SHI, M. et al. Analysis of inorganic cations in honey by capillary zone electrophoresis with indirect UV detection. **Journal of chromatographic science**, v. 50, n. 6, p. 547-552, 2012.
- SILVA, B. et al. Effect of *M. scabrella* Bentham honeydew honey on inflammatory mediators. **Journal of Functional Foods**, v. 72, p. 104034, 2020.
- SILVA, B. et al. Elemental profiling by ICP-MS as a tool for geographical discrimination: The case of bracatinga honeydew honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 96, p. 103727, 2021b.

SILVA, B. et al. Improved strategy based on QuEChERS method followed by HPLC/DAD for the quantification of phenolic compounds from *M. scabrella* Bentham honeydew honeys. **LWT**, v. 116, p. 108471, 2019.

SILVA, B. **Mel de melato de bracinga (*M. scabrella* Bentham): compostos bioativos, potencial anti-inflamatório e marcadores proteômicos de autenticidade**. 2020. 225p. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Oeste do Pará, Florianópolis, 2020.

SILVA, B. et al. Phenolic profile and *in vitro* anti-inflammatory activity of *M. scabrella* Bentham honeydew honey in RAW 264.7 murine macrophages. **Journal of Food Biochemistry**, p. e14076, 2022.

SILVA, H. L. A. et al. Sodium reduction and flavor enhancers addition: is there an impact on the availability of minerals from probiotic Prato cheese?. **LWT**, v. 93, p. 287-292, 2018.

SOLAYMAN, M. et al. Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 219-233, 2016.

SOMARRIBA, E.; KASS, D. Estimates of above-ground biomass and nutrient accumulation in *M. scabrella* fallows in southern Brazil. **Agroforestry Systems**, v. 2, p. 77–84, 2001.

SPIRIĆ, D. et al. Toxic and essential element concentrations in different honey types. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 99, n. 5, p. 474–485, 2019.

SPUDEIT, D. A.; DOLZAN, M. D.; MICKE, G. A. Conceitos básicos em eletroforese capilar. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 4, p. 287-297, 2012.

STELMACH, E.; POHL, P.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A. The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews. **Food chemistry**, v. 182, p. 302-308, 2015.

SUÁREZ-LUQUE, S. et al. Capillary zone electrophoresis method for the simultaneous determination of cations in honey. **Journal of Chromatography A**, v. 1083, n. 1-2, p. 193-198, 2005.

SULLIVAN, R. J. **Digestion and nutrition**. Nova York (Estados Unidos): Infobase Publishing, 2009.

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.

SWINNEY, K.; BORNHOP, D. J. Detection in capillary electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 21, p. 1239-1250, 2000.

TANG, N.; SKIBSTED, L. H. Calcium binding to amino acids and small glycine peptides in aqueous solution: Toward peptide design for better calcium bioavailability. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 64, n. 21, p. 4376-4389, 2016.

TAVARES, M. F. M. Eletroforese capilar: conceitos básicos. **Química Nova**, v. 19, n. 2, p. 173–181, 1996.

TAVARES, M. F. M. Mecanismos de separação em eletroforese capilar. **Química Nova**, v. 20, p. 493-511, 1997.

TERIO, V. et al. Methylglyoxal (MGO) in Italian Honey. **Applied Sciences**, v. 11, n. 2, p. 831,

2021.

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.

VASIĆ, V. et al. Two aspects of honeydew honey authenticity: Application of advance analytical methods and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 305, p. 125457, 2020.

VAZ, F. A. S.; OLIVEIRA, C. L. M.; OLIVEIRA, M. A. L. Fundamentos de eletroforese capilar: Uma abordagem por animações. **Química Nova**, v. 38, n. 5, p. 732-737, 2015.

VERHOECKX, K. et al. **The impact of food bioactives on health: *in vitro* and *ex vivo* models**. Cham, Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer, 2015.

VIANNA, L. F. et al. **Indicações Geográficas e outros signos distintivos: conceitos, aplicações e adequação aos produtos agropecuários em Santa Catarina**. Florianópolis, SC, 2021. 51p. (Epagri. Documentos, 336).

VIDAL, M. F. Efeitos da seca de 2012 sobre a apicultura nordestina. **Informe Rural**, ano VII, n.2, p. 1-5, 2013. Disponível em: https://198.17.121.65/s482-dspace/bitstream/123456789/921/1/2013_IRE_02.pdf. Acesso em: 24 fev. 2022.

WESOŁOWSKA, M.; DŽUGAN, M. The use of the Photochem device in evaluation of antioxidant activity of Polish honey. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 5, p. 1568-1574, 2017.

WINIARSKA-MIECZAN, A. et al. Evaluation of consumer safety of Polish honey—the content of Cd and Pb in multifloral, monofloral and honeydew honeys. **Biological Trace Element Research**, 2021.

WOLFF, V. R. DOS S.; WITTER, S.; LISBOA, B. B. Reporte de *Stigmatococcus paranaensis* Foldi (Hemiptera, Stigmatococcidae), insecto escama asociado con la producción de miel de mielato en Rio Grande do Sul, Brasil Vera. **Insecta Mundi**, v. 0434, p. 1–7, 2015.

YANG, W. et al. Pathway of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde formation in honey. **Journal of food science and technology**, v. 56, n. 5, p. 2417-2425, 2019.

YOUNG, I. S.; WOODSIDE, J. V. Antioxidants in health and disease. **Journal of Clinical Pathology**, v. 54, n. 3, p. 176–186, 2001.

ZHOU, X. et al. Authenticity and geographic origin of global honeys determined using carbon isotope ratios and trace elements. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.

APÊNDICE A – Frações bioacessíveis (%) dos minerais potássio, magnésio e cálcio em amostras de mel de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham) armazenadas por 8, 16 e 24 meses a temperatura ambiente (23 °C) e por 4 meses a 40 °C.

Mineral	Amostra	Armazenamento				
		Tempo 0	8 meses (TA)	16 meses (TA)	24 meses (TA)	4 meses (TA)
Potássio	Bocaina do Sul	87,1 ± 0,1	75,7 ± 0,7	80,8 ± 0,4	78,1 ± 1,6	80,5 ± 0,2
	Lages	81,1 ± 0,1	82,8 ± 2,6	77,9 ± 0,8	79,9 ± 0,1	82,2 ± 0,4
	Urupema	67,9 ± 1,9	70,9 ± 0,8	71,4 ± 0,5	71,8 ± 5,3	69,9 ± 1,2
Magnésio	Bocaina do Sul	114,5 ± 1,0	92,0 ± 0,8	117,5 ± 0,2	110,9 ± 1,2	106,0 ± 1,1
	Lages	117,3 ± 0,8	98,9 ± 1,0	100,2 ± 1,8	112,0 ± 0,3	107,9 ± 0,2
	Urupema	111,5 ± 0,1	116,2 ± 4,9	102,5 ± 0,6	100,1 ± 2,5	112,4 ± 0,9
Cálcio	Bocaina do Sul	130,6 ± 4,2	97,0 ± 2,9	128,9 ± 3,5	147,2 ± 3,4	141,9 ± 2,9
	Lages	106,4 ± 2,1	123,0 ± 1,4	113,2 ± 4,0	135,1 ± 2,5	144,1 ± 0,0
	Urupema	94,5 ± 5,9	84,7 ± 5,7	112,6 ± 1,2	123,5 ± 0,9	128,8 ± 1,5

Legenda: TA – Temperatura ambiente; dados expressos como média ± desvio padrão; ($n = 2$).

Fonte: Próprio autor (2022).

ANEXO A – Monitoramento das temperaturas de armazenamento dos méis de melato de bracatinga (*M. scabrella* Bentham)

Condição de armazenamento	Período de armazenamento				Média
	0 – 4 meses	0 – 8 meses	8 – 16 meses	16 – 24 meses	
TA	-	23,6 ± 2,7	22,2 ± 1,5	23,2 ± 2,4	23,0 ± 2,1
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: Adaptado de Seraglio (2020).