



# COINTER PDVAgro 2020

V CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Edição 100% virtual | 02 a 05 de dezembro

ISSN:2526-7701 | PREFIXO DOI:10.31692/2526-7701

## DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE ÁCIDOS ORGÂNICOS ALIFÁTICOS EM PÓLEN COMERCIAL: UM ESTUDO PRELIMINAR

## DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ÁCIDOS ORGÁNICOS ALIFÁTICOS EN EL POLEN COMERCIAL: ESTUDIO PRELIMINAR

## QUALITATIVE DETERMINATION OF ALIFATIC ORGANIC ACIDS IN COMMERCIAL POLLEN: A PRELIMINARY STUDY

Apresentação: Pôster

Silvana Katia Tischer Seraglio<sup>1</sup>; Greici Bergamo<sup>2</sup>; Luciano Valdemiro Gonzaga<sup>3</sup>; Roseane Fett<sup>4</sup>; Ana Carolina Oliveira Costa<sup>5</sup>

### INTRODUÇÃO

As abelhas *Apis mellifera* produzem dois tipos de méis, os quais se distinguem conforme o tipo de fonte sacarínica utilizada: os méis florais, elaborados a partir do néctar de flores; e o mel de melato, produzido utilizando excreções de insetos sugadores de plantas e/ou secreções de plantas (EUROPEAN COMMISSION, 2002). Ambos os tipos de méis são apreciados por consumidores e indústrias alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos, os quais encontram nos méis um alimento versátil com características sensoriais, físico-químicas, nutricionais e terapêuticas diversificadas. Por esses motivos, o mel é considerado um alimento funcional e o interesse no seu uso e consumo tem aumentado constantemente (PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017; SERAGLIO et al., 2019).

O mel é constituído principalmente pelos monossacarídeos frutose e glicose, além da água. Mas também são encontrados centenas de outros compostos em menores concentrações, como os ácidos orgânicos alifáticos de baixa massa molar (AOA). Esses compostos são encontrados nos méis em concentrações entorno de 0,5 a 1% e são vinculados como os principais responsáveis pela acidez do mel. Os AOA podem ser oriundos da fonte sacarínica utilizada para a elaboração do mel, ou seja, do néctar, excreções e secreções açucaradas; do

<sup>1</sup> Pós-doutoranda em Ciências dos Alimentos (bolsa CNPq - Brasil (160175/2019-4)), Universidade Federal de Santa Catarina, [siluanaseraglio@hotmail.com](mailto:siluanaseraglio@hotmail.com)

<sup>2</sup> Doutora em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, [greici.bergamo@hotmail.com](mailto:greici.bergamo@hotmail.com)

<sup>3</sup> Graduando em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, [lvgonzaga@hotmail.com](mailto:lvgonzaga@hotmail.com)

<sup>4</sup> Professora, Doutora em Química Orgânica, Universidade Federal de Santa Catarina, [roseane.fett@ufsc.br](mailto:roseane.fett@ufsc.br)

<sup>5</sup> Professora, Doutora em Química Analítica, Universidade Federal de Santa Catarina, [ana.costa@ufsc.br](mailto:ana.costa@ufsc.br)

## DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE ÁCIDOS ORGÂNICOS ALIFÁTICOS EM PÓLEN

pólen, principal fonte proteica utilizada pelas abelhas; dos processos de elaboração e maturação do mel na colmeia; e das etapas pós-colheita do mel, que incluem o processamento e estocagem (BRUGNEROTTO et al., 2019; PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017; SERAGLIO et al., 2019).

Em méis florais, o pólen é comumente encontrado em concentrações maiores do que em méis de melato, sendo inclusive o material investigado na análise melissopalínológica para a indicação da origem botânica de méis florais (REYES; SANCHÉZ, 2017). Portanto, o pólen é um importante constituinte presente em méis, especialmente méis florais, podendo contribuir no perfil de AOA nesses produtos (KALAYCIOĞLU et al., 2017). Além disso, o pólen é outro produto apícola com valor agregado, sendo comercializado para consumo direto como pólen comercial bem como ingrediente em suplementos, por exemplo. Entretanto, informações relacionadas a composição de AOA no pólen são escassas.

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo investigar qualitativamente o perfil de AOA em pólen comercial do município de Urupema, Santa Catarina, Brasil, utilizando eletroforese capilar acoplada a detector de arranjo de diodos.

### FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Considerando que o pólen está presente em méis, especialmente méis florais, e que este pode ser um importante carreador de AOA aos méis, torna-se necessário conhecer o perfil de AOA em pólen. Esse tipo de informação ainda é escasso na literatura, mas pode trazer relevantes dados relacionados a contribuição do pólen à composição de AOA em méis. A importância desses dados se torna evidente se considerarmos que muitos dos AOA quando presentes em méis são relacionados a uma possível perda de qualidade do produto pela ocorrência ou adoção de processos pós-colheita inadequados.

### METODOLOGIA

#### Reagentes

Foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, Estados Unidos) os reagentes brometo de cetil trimetil amônio (CTAB),  $\beta$ -alanina e os ácidos 3,5-dinitrobenzoico, maleico, malônico, tartárico, fórmico, cítrico, málico, glicólico, láctico, succínico, acético, propiônico, glucônico e glutárico. Água ultrapura (Milli-Q, Millipore, Bedford, Massachusetts, Estados Unidos) foi utilizada em todos os experimentos.

### **Pólen comercial**

Uma amostra de pólen comercial (115 g) proveniente do município de Urupema, Santa Catarina, Brasil, foi adquirida em um comércio local de Alfredo Wagner, Santa Catarina, Brasil, no ano de 2016. A amostra de pólen foi mantida congelada (-18 °C) até o momento das análises. Esta foi avaliada em até 4 meses após a data de fabricação, estando dentro do prazo de validade do produto.

### **Determinação de ácidos orgânicos alifáticos**

A investigação do perfil de AOA em pólen foi realizada de acordo com o método proposto por Azevedo et al. (2014), com modificações, utilizando um sistema de eletroforese capilar acoplado ao detector de arranjo de diodos (CE-DAD). A separação eletroforética ocorreu a 25 °C empregando uma voltagem de -30 kV e em um capilar não revestido de sílica fundida (64,5 cm de comprimento efetivo e 75 µm de diâmetro interno; Polymicro Technologies, Phoenix, Arizona, Estados Unidos). O eletrólito de corrida (pH 3,6) utilizado na separação foi composto de 21 mmol L<sup>-1</sup> de β-alanina, 10 mmol L<sup>-1</sup> de ácido 3,5-dinitrobenzoico e 1,5 mmol L<sup>-1</sup> de CTAB, sendo esta solução também utilizada no condicionamento do capilar entre corridas (lavagem por 1 min). Amostra e padrões foram introduzidos no capilar por meio de pressão hidrodinâmica (50 mbar por 3 s) e os analitos detectados pelo modo indireto em 254 nm (referência em 360 nm para inversão dos picos).

A amostra de pólen devidamente homogeneizada e triturada (1,0 ± 0,1 g) foi misturada com água (1:2; m/v), agitada em vórtex por 2 min e centrifugada durante 10 min a 14.000 rpm (Thermo Fischer Scientific Inc., Massachusetts, Estados Unidos). O sobrenadante foi injetado diretamente no sistema de CE-DAD, sendo subseqüentes diluições realizadas quando necessário. Para a identificação dos analitos, foi utilizado o método de adição de padrão comercial à amostra.

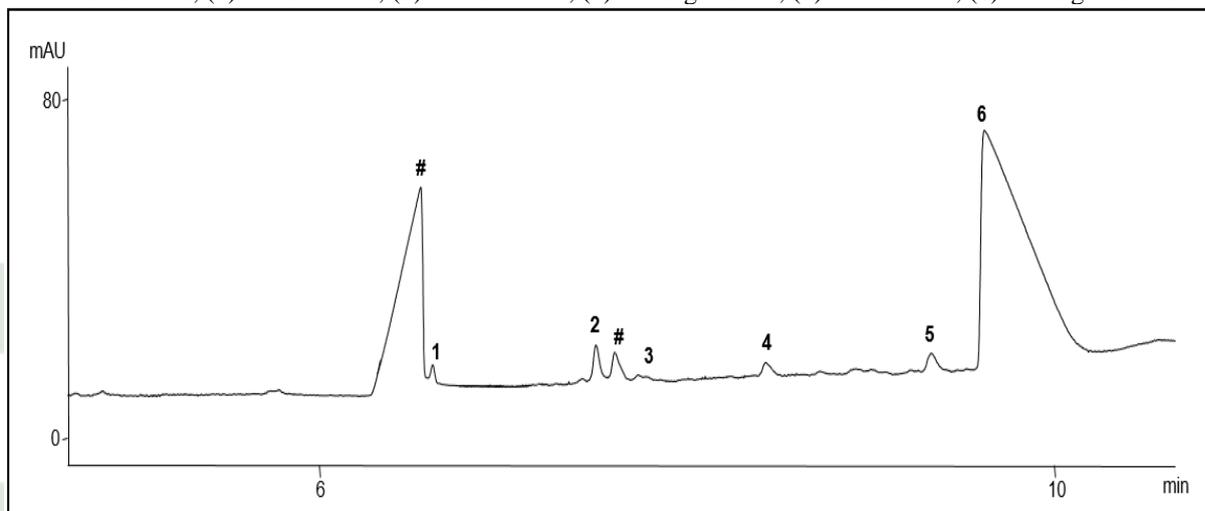
### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O pólen é uma possível fonte de AOA aos méis, podendo carrear ao mel AOA que são comumente vinculados a fermentação do mel, como o ácido acético (CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006), e ao aquecimento do mel, como os ácidos levulínico e fórmico (SHAPLA et al., 2018), por exemplo.

Assim, no presente estudo, uma investigação exploratória referente a identificação dos AOA presentes em pólen comercial do município de Urupema, Santa Catarina, foi realizada (Figura 01).

## DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE ÁCIDOS ORGÂNICOS ALIFÁTICOS EM PÓLEN

**Figura 01:** Perfil de ácidos orgânicos alifáticos de baixa massa molar em amostra de pólen comercial do município de Urupema, Santa Catarina, Brasil, diluído 1:44 (m/v). Identificação dos picos: (#) desconhecido; (1) ácido fórmico; (2) ácido cítrico; (3) ácido málico; (4) ácido glicólico; (5) ácido lático; (6) ácido glucônico.



Fonte: Própria (2020).

Na Figura 01 é possível observar o eletroferograma da amostra de pólen comercial investigada. A partir dessa análise qualitativa foi possível verificar que, dos 13 AOA investigados (ácidos maleico, malônico, tartárico, fórmico, cítrico, málico, glicólico, lático, succínico, acético, propiônico, glucônico e glutárico), seis foram detectados na amostra de pólen: ácidos fórmico, cítrico, málico, glicólico, lático e glucônico. O AOA glucônico seguido de um pico desconhecido com tempo de migração entorno de 6,5 min parecem ser os compostos majoritários.

A presença do ácido glucônico em elevada abundância na amostra de pólen comercial sugere que este AOA esteja em concentrações elevadas nas plantas nas quais os seus pólenes foram coletados pelas abelhas, assim como também pode estar associada a ação da enzima glicose-oxidase e/ou da bactéria *Gluconobacter* spp., ambos provindos da abelha, sobre a glicose presente no pólen (BRUGNEROTTO et al., 2019). Tanto a enzima como a bactéria podem ter sido adicionados ao pólen pela abelhas durante a transferência desse produto da flor até a colmeia. Sendo assim, esses achados são relevantes, uma vez que o ácido glucônico é o principal AOA presente em méis e, portanto, sugerem que o pólen é uma potencial fonte desse AOA ao mel. Vale destacar também que os resultados encontrados no presente estudo estão em concordância com relatos na literatura, onde o ácido glucônico foi reportado como o AOA majoritário em amostras de pólen da Turquia (KALAYCIOĞLU et al., 2017).

Considerando o estudo conduzido por Brugnerotto et al. (2019) em méis florais Catarinenses, incluindo do município de Urupema, foram reportados 14 AOA, incluindo todos os seis AOA encontrados no pólen comercial investigado no presente estudo. No estudo

de Brugnerotto et al. (2019) foi utilizado um método por CE-DAD muito semelhante ao empregado nesse estudo e não foi detectado nenhum pico desconhecido próximo ao ácido fórmico. Esse fato permite propor que o composto desconhecido detectado em elevada abundância no presente estudo na amostra de pólen comercial é possivelmente degradado durante os processos envolvidos na elaboração e maturação do mel. Essa hipótese justificaria a sua presença no pólen mas ausência nos méis.

Além disso, é importante destacar a presença do ácido láctico e do ácido fórmico no pólen comercial. Quando presentes no mel, esses AOA indicam a ocorrência de processos de fermentação ou manipulação inadequada com conseqüente comprometimento da qualidade e segurança do produto (BRUGNEROTTO et al., 2019; SHAPLA et al., 2018). No entanto, a presença desses AOA em méis não deve ser premeditadamente vinculada com o comprometimento da sua qualidade e segurança pois a origem desses AOA pode estar relacionada com o pólen presente no mel e não a processos ou vias de deterioração. Essa hipótese é reforçada pelo estudo conduzido por Kalaycioğlu et al. (2017), onde o ácido láctico foi reportado como o segundo AOA encontrado em maiores concentrações em pólenes da Turquia.

Portanto, os resultados desse estudo preliminar demonstram claramente que existe a contribuição de forma efetiva do pólen na composição de AOA em méis. Assim, a investigação das origens dos AOA no mel, com especial atenção as fontes sacarínicas e ao pólen, torna-se importante para a avaliação da qualidade desse produto.

## CONCLUSÕES

A partir desse estudo qualitativo e exploratório foi possível confirmar a presença de seis AOA além de um composto desconhecido em elevada abundância em pólen comercial e vincular esse produto como uma potencial fonte de AOA em méis. Ainda, esses dados demonstram a importância da investigação do perfil de AOA no pólen para o rastreamento das possíveis origens dos AOA nos méis, assim como da necessidade de estudos futuros direcionados a investigação quantitativa e de um número representativo de amostras.

## AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; código de financiamento 001) pelas bolsas de estudo e suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

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

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

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

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

KALAYCIOĞLU, Z. et al. Characterization of Turkish honeybee pollens by principal component analysis based on their individual organic acids, sugars, minerals, and antioxidant activities. **LWT**, v. 84, p. 402–408, 2017.

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

REYES, E. S.; SANCHÉZ, J. S. Botanical Classification. In: **Bee Products - Chemical and Biological Properties**. Cham (Switzerland): Springer International Publishing, 2017. p. 3–19.

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.

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