

 **PDF Complete**  
*Your complimentary use period has ended.  
Thank you for using PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
CENTRO TECNOLÓGICO  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ELKA ODILA LEITÃO PEREIRA

**ADAPTAÇÃO DE MÉTODOS FÍSICO, QUÍMICO E  
BIOQUÍMICO NO CONTROLE DE QUALIDADE DE MÉIS DE  
ABELHA SEM FERRÃO PRODUZIDO NO NORDESTE  
PARAENSE.**

BELÉM  
2007



**ELKA ODILA LEITÃO PEREIRA**

**ADAPTAÇÃO DE MÉTODOS FÍSICO, QUÍMICO E  
BIOQUÍMICO NO CONTROLE DE QUALIDADE DE MÉIS DE  
ABELHA SEM FERRÃO PRODUZIDO NO NORDESTE  
PARAENSE.**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR :  
Dr.: Alberdan Silva Santos

BELÉM  
2007



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

## **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Biblioteca do Curso de Mestrado em Engenharia Química**

---

Pereira, Elka Odila Leitão

Adaptação de métodos físico, químico e bioquímico no controle de qualidade de méis de abelha sem ferrão produzido no nordeste paraense / Elka Odila Leitão Pereira; orientador: Alberdan Silva Santos, 2007

Dissertação (Mestrado) ó Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia. Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2007

1. Mel- Composição 2. Abelha sem ferrão 3. Abelha I. Título  
CDD 22 ed. 638.16

---



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
CENTRO TECNOLÓGICO  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ELKA ODILA LEITÃO PEREIRA

***ADAPTAÇÃO DE MÉTODOS FÍSICO, QUÍMICO E BIOQUÍMICO NO  
CONTROLE DE QUALIDADE DE MÉIS DE ABELHA SEM FERRÃO  
PRODUZIDO NO NORDESTE PARAENSE.***

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr Alberdan Silva Santos - UFPA  
(Orientador)

---

Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana - UFAL  
(1ª Examinador)

---

Dr. Giorgio Venturiere . Embrapa Amazônia Oriental  
(2ª Examinador)

---

Prof. Dr. Dr. José Guilherme Soares Maia - UFPA  
(3ª Examinador)

BELÉM  
2007



*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

## **DEDICATÓRIA**

Este trabalho dedico ao meu avô, Francisco Solano Leitão, que foi uma pessoa muito importante na minha vida, um exemplo de homem, avô e pai.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, que me acompanha em tudo que faço;

A **CAPES** pela concessão da bolsa de estudo;

À **Universidade Federal do Pará**, pelo Curso de Ciências e Tecnologia de Alimentos;

Aos meus pais, **Neide Leitão Pereira** e **Fernando Antônio Pereira**, que foram à base da minha formação e educação, a pessoa que sou hoje devo a eles;

Ao meu querido esposo, **Welliton de Lima Sena**, pelo amor, incentivo e companheirismo;

Ao meu querido orientador Professor Dr. **Alberdan Silva Santos** pela sincera amizade e orientação;

Aos coordenadores, Professores Dr. **Rosinelson Pena** e Dr. **Hervé Rogez** pela atenção com os alunos e com o curso;

A Professora **Regina Muller**, pela colaboração e amizade;

Ao Dr. **Giorgio Venturieri** da Embrapa Amazônia Oriental, pela colaboração neste trabalho;

À técnica **Dorazilma** pela ajuda nas análises de absorção atômica;

Ao amigo **José Luiz**, pela ajuda nas análises e amizade;

Ao colega e amigo **Ronilson Souza** pelo apoio nas análises de açúcares e pela paciência;

A colega **Silvana** pela ajuda nas análises de fenólicos;

Ao colega **Nelson Alencar** pela ajuda em obter os aromas;

Ao Professor Dr. **José Guilherme Maia** e **Eloísa** pela análise em CG/MS dos voláteis;

E a todos os amigos que de certa forma me ajudaram nessa grande vitória.



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

*há pessoas parecidas com  
abelhas: transformam em alimento  
tudo o que é bom, saudável e  
doce+*

**Tecla Merlo**

## RESUMO

Neste trabalho avaliou-se a composição centesimal do mel de abelhas uruçucinzenta (*Melipona fasciculata*) através de métodos físico, químico e bioquímico adaptados e aplicados no controle de qualidade. As amostras de méis foram fornecidas pelos criadores de abelhas nativas da comunidade da Flecheira de Tracuateua no Nordeste Paraense, em novembro de 2005, mês de maior produtividade. Alguns parâmetros do mel de abelha sem ferrão apresentaram valores dentro dos padrões do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (Ministério da Agricultura e do Abastecimento). Com exceção dos valores médios de umidade e atividade de diastásica que se encontraram fora dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, porém todos os valores são compatíveis com aqueles relatados em trabalho realizados com abelhas sem ferrão. A metodologia descrita por SANTOS, MALASPINA, PALMA (2003), apresentou-se satisfatória na análise de atividade diastásica. O método aplicado na extração do aroma (EDS-Extração por Destilação Simultânea) permitiu avaliar os voláteis tendo como substância majoritária o limoneno com 55%, orto-guaiacol 10,31%, óxido de cis linalol 9,81% e óxido de trans linalol 10,41%. O estudo de estabilidade do mel mostrou que a cor não variou durante 4 semanas, Já o pH, acidez e Hidroximetilfurfural apresentaram variações. A acidez é o parâmetro determinante requerendo a necessidade de estudos de controle para este tipo de mel.

**Palavras-chave:** Controle de qualidade; Abelha sem ferrão; Composição centesimal; *Melipona fasciculata*



## ABSTRACT

In this work was evaluated the centesimal composition of the *uruçu-cinzenta* honey of bees (*Melipona fasciculata*) through physical, chemical and biochemical adapted and applied methods in the quality control of this honey. The samples of honey had been supplied by the creators of native bees at community of the Flecheira, in the *Tracuateua* city, Northeast of the Pará State, in November of 2005, month of bigger productivity. Some parameters of the bee honey without sting had meet the standards values, according to the Identity and Quality Technician Regulation of the Honey (Ministry of Agriculture and Supplying). With exception the medium values of humidity and diastase activity were had been of the established limits for the Brazilian legislation, however all the values are compatible with those told in work developed with bees without sting. The methodology described by SANTOS, MALASPINA, PALMA (2003), was satisfactory for the analysis of diastase activity.

The applied method in the extraction of the aroma (SDE- Simultaneous Distillation extraction), was applied to evaluate the volatile main substance like: limoneno with 55%, orto-guaiacol 10,31%, cis-linalol oxide 9,81% and trans-linalol oxide 10,41%. The stability of the honey showed that the color didn't vary for the 4 weeks long. Although the pH, acidity and Hidroxymethylfurfural presented variations in the concentrations. The acidity was the decisive parameter requesting the need of control studies for this type of honey.

**Key -Words:** Quality control; Bee without sting; Centesimal composition, *Melipona fasciculata*.

## SUMÁRIO

	Pág.	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
	Objetivo Geral.	17
	Objetivo específico.	17
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>18</b>
	Breve visão histórica do mel de abelhas.	18
	Principais espécies de Meliponíneos.	19
	Abelha sem ferrão e suas características.	20
	Morfologia e divisão das famílias das abelhas.	21
	Plantas apícolas.	23
	Unidades do mel de abelha.	25
	Visão geral da composição do mel de abelhas.	26
	Açúcares presente em méis de abelha.	26
	Umidade versus processo fermentativo no mel de abelha.	27
	A presença do Hidroximetilfurfural em méis de abelhas.	28
	Atividade diastásica em méis de abelha.	29
	Resíduo mineral fixo (RMF) presente em méis de abelha.	30
	Influência do pH em méis de abelha.	31
	Acidicidade em méis de abelha.	31
	Substâncias fenólicas.	32
	Características do mel de abelha.	33
<b>3</b>	<b>MATERIAL E METODOS</b>	<b>37</b>
<b>3.1</b>	Obtenção dos méis.	37
<b>3.2</b>	Colheita e armazenamento.	37
<b>3.3</b>	Extração de voláteis de méis silvestres.	38
<b>3.3.1</b>	Análises por CG/EM.	39
<b>3.3.2</b>	Identificação dos compostos voláteis no mel de abelhas.	39
<b>3.4</b>	<i>Análise de açúcares em méis silvestres:</i>	<b>39</b>
	a) Determinação de açúcares redutores pelo método do Ácido 3,5-Dinitrossalicílico (ADNS).	39

	es reductores totais pelo método do ADNS.	41
c)	Determinação de Cetose pelo reagente de Sallivanoff.	41
c.1)	Análise quantitativa de Selliwanoff para frutose totais.	42
d)	Calculo de concentração de açúcares: Açúcares Redutores (Frutose + Glicose); açúcares reductores totais e Sacarose.	43
e)	Avaliação quantitativa de Frutose utilizando-se o reagente de Benedict.	43
f)	Determinação de açúcares reductores pelo método Titulométrico.	44
F.1)	Sacarose aparente.	46
3.5	Determinação do resíduo Mineral Fixo.	47
3.5.1	Determinação der sais minerais.	48
3.6	Determinação do Hidroximetilfurfural (HMF) através do método da Espectrofotometria.	49
3.7	Determinação da atividade diastásica do mel.	50
3.8	Determinação da umidade presente no mel de abelha sem ferrão.	52
3.9	Identificação da cor no mel de abelha por diagrama de cores.	54
3.10	Identificação da cor no mel de abelha pela espectrometria.	56
3.11	Análise do potencial hidrogeniônico do mel de abelha sem ferrão.	57
3.12	Análise da acidez livre presente no mel de abelha sem ferrão.	57
3.13	Determinação de proteína total pelo método do Kjeldahl.	58
3.14	Determinação de compostos fenólicos em mel de abelha sem ferrão pelo método de Folin Denis .	59
3.2	Extração de Bromelina.	60
3.3	Avaliação da estabilidade do mel de abelha em condições aceleradas.	63
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	64
5	CONCLUSÕES	86
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b> Principais espécies de abelhas indígenas sem ferrão distribuídas no Mapa do Brasil.	<b>20</b>
<b>Figura 2</b> Abelha urucu-cinzenta ( <i>M. fasciculata</i> ).	<b>21</b>
<b>Figura 3</b> Operaria da abelha urucu-cinzenta ( <i>M. fasciculata</i> ) guardando a entrada do ninho.	<b>21</b>
<b>Figura 4</b> Corbícula da abelha (local onde a abelha carrega o pólen, reina e barro).	<b>22</b>
<b>Figura 5</b> Rainha com fisogastria (abdome dilatado) ao lado da operária.	<b>23</b>
<b>Figura 6:</b> Circulo cromático.	<b>34</b>
<b>Figura 7</b> Melgueira totalmente preenchida com potes de mel de urucu-cinzenta ( <i>M. fasciculata</i> ), comunidade da Flecheira . Tracuateua.	<b>37</b>
<b>Figura 8</b> Sistema de extração de voláteis . SDE.	<b>38</b>
<b>Figura 9</b> Curva de quantificação de glicose para quantificação de açúcares redutores pelo método ADNS.	<b>40</b>
<b>Figura 10</b> Curva padrão de quantificação de frutose pelo método de Selliwanoff.	<b>42</b>
<b>Figura 11</b> Titulação finalizada com a solução apresentando a cor vermelho tijolo intenso.	<b>45</b>
<b>Figura 12</b> Programação da temperatura na mufla.	<b>48</b>
<b>Figura 13</b> Determinação da umidade no aparelho Dean Stark (DS).	<b>53</b>
<b>Figura 14</b> Diagrama de cores e direções dos espaços $\%_{\text{out}}$ e $\%_{\text{in}}$ , corte horizontal, vista superior.	<b>55</b>
<b>Figura 15</b> Corte no 1º quadrante, vista trandimensional da esfera.	<b>55</b>
<b>Figura 16</b> Representação da cor em profundidade, representado pelo espaço L.	<b>56</b>
<b>Figura 17</b> Fluxograma para obtenção de bromelina.	<b>61</b>
<b>Figura 18</b> Varredura do comprimento de onda, no espectrofotômetro, para o reagente de Sellivanoff na determinação de frutose.	<b>64</b>
<b>Figura 19</b> Padrões de frutose (figura 14 A) e sacarose (figura 14 B) com o reagente de Selliwanoff, durante o tempo de 1 a 10 minutos a 100°C.	<b>65</b>

<b>Figura 20</b>	Estado do comportamento da hidrólise da sacarose: monitoramento da formação de frutose no meio reativo.	<b>65</b>
<b>Figura 21</b>	Tubo 1, glicose, tubo 2, branco, tubo 3, sacarose e tubo 4, frutose, durante o tempo de 5 min. a 100°C, da esquerda para à direita, com o reagente de Selliwanoff.	<b>66</b>
<b>Figura 22</b>	Comparação dos açúcares, glicose, frutose e mel de abelha com reagente de Benedict, na figura 18 A, a 5 minutos de banho-maria e na figura 18 B a 10 minutos de banho-maria, da esquerda à direita.	<b>67</b>
<b>Figura 23</b>	Cinética da atividade diastásica presente no mel de abelha sem ferrão dos produtores da Flecheira de Tracuateua-PA.	<b>75</b>
<b>Figura 24</b>	Representação da cor do mel pelo círculo cromático.	<b>76</b>
<b>Figura 25</b>	Curva de quantificação de fenólicos totais: Absorvância <i>versus</i> (ABS) concentração de ácido tânico (mg/g). Coeficiente de correlação: $R^2 = 0,99476$ .	<b>77</b>
<b>Figura 26</b>	Perfil cromatográfico dos voláteis de mel de abelha sem ferrão da comunidade da Flecheira do município de Tracuateua . PA.	<b>79</b>
<b>Figura 27</b>	Comportamento da coloração do mel de abelha sem ferrão conforme os valores médios de ABS nos tratamentos: T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7, durante quatro semanas.	<b>82</b>
<b>Figura 28</b>	Valores médios de Hidroximetilfurfural do mel de abelha sem ferrão nos tratamentos: T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7, durante quatro semanas.	<b>83</b>
<b>Figura 29</b>	Valores médios de pH do mel de abelha sem ferrão nos tratamentos: T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7, durante quatro semanas.	<b>84</b>
<b>Figura 30</b>	Valores médios de acidez do mel de abelha sem ferrão nos tratamentos: T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7, durante quatro semanas.	<b>85</b>

## LISTA DE TABELA

	Pág.
<b>Tabela 1:</b> Tabelas de cores.	<b>35</b>
<b>Tabela 2:</b> Tabelas de cores do espectro visível.	<b>35</b>
<b>Tabela 3:</b> Concentração de açucare e reagentes em condições experimentais.	<b>40</b>
<b>Tabela 4:</b> Valores de absorbância e intervalos de tempo para leitura.	<b>51</b>
<b>Tabela 5:</b> Classificação do mel conforme a coloração.	<b>57</b>
<b>Tabela 6:</b> Valores médios de % de açúcares redutores, % Açúcares redutores totais e % Sacarose, pela análise titulométrico (Fihling) e ADNS.	<b>69</b>
<b>Tabela 7:</b> Parâmetros físico-químico da amostra de mel de meliponíneos.	<b>70</b>
<b>Tabela 8:</b> Minerais determinados de mel de abelha ( <i>Melípona fasciculata</i> ).	<b>72</b>
<b>Tabela 9:</b> Quantidades acrescidas de água e glicose no equipamento Dean Stark para se determinar os fatores de correção.	<b>73</b>
<b>Tabela 10:</b> Porcentagem relativa e identificação das substancias voláteis de mel de abelha sem ferrão.	<b>79</b>
<b>Tabela 11:</b> Valores médios de cor (ABS), HMF, pH e acidez, referentes ao estudo da estabilidade do mel de abelha em condições acelerada no período de quatro semanas.	<b>81</b>

A apicultura Paraense é uma atividade voltada para a agricultura familiar, que proporciona geração de emprego e renda para o homem do campo. Entre os anos de 2002 e 2005 a produção de mel de abelhas (*Apis mellifera*) apresentou um crescimento de 500%, atingindo produção acima de 500 toneladas/ano. No Estado do Pará se produz apenas o mel, mas a apicultura apresenta grande potencial de ampliação de outros produtos como: própolis, pólen e cera de abelha (SAGRI, 2005).

A meliponicultura é o nome dado à produção de mel e criação de abelhas sem ferrão, produz um mel que tem apresentado uma demanda crescente de mercado, obtendo-se preços mais elevados que o mel das abelhas *A. mellifera* em diferentes regiões do Brasil. No Maranhão a produção da meliponicultura em 2006 foi de 600 quilos/ano (SEAGRO, 2006), enquanto que no Estado do Pará a produção é ainda muito baixa. Segundo trabalhos de VENTURIERI (2006), este panorama tende a mudar, uma vez que o nordeste paraense vem implantado boas técnicas de manejo para a criação racional de abelhas nativas, contribuindo para o aumento da produtividade e qualidade de mel produzido.

Os méis das abelhas sem ferrão apresentam um caráter organoléptico diferenciado, quando comparado com méis produzidos por *A. mellifera*, se distinguindo pela umidade, densidade, viscosidade, aroma, cor e pH. As abelhas nativas adicionam propriedades provenientes de glândulas salivares que dão uma característica de leve acidez, tornando-o um sabor característico.

De modo geral o mel de abelha é composto, na sua maior parte de água e açúcares, o que totaliza 99%, o 1% restante está relacionado com substâncias que estão no mel em quantidades diminutas, mas que são importantes na sua caracterização (proteínas, ácidos orgânicos, minerais, aminoácidos, entre outros). Os méis contêm 4,5 vezes mais açúcar do que água e essa alta taxa de açúcares é que proporciona o alto grau de qualidade dos méis, o que potencializa seu valor energético.

É fundamental a caracterização dos méis de abelha sem ferrão visando o estabelecimento de padrões de análises, pois conforme os fatores edafo-climáticos e florísticos das regiões, é imperativo se estabelecer critérios comparativos nas análises, o que desta forma possibilita avaliar as possíveis fraudes desse produto. Não há uma legislação específica no Brasil para méis de abelhas sem ferrão. O

regulamentado pela instrução normativa 11, de 20 de outubro/2000 (BRASIL, 2000). Essa regulamentação é baseada em legislações europeias para méis de *A. mellifera* que estabelece a identidade e requisitos mínimos de qualidade ao mel, porém, os parâmetros de qualidade do mel de *A. mellifera* são diferentes aos das abelhas sem ferrão, pois esses méis apresentam características diferenciadas.

Atualmente, as análises dos açúcares são realizadas pelo modo convencional: açúcares redutores e totais. Desta forma, pela ausência de um método químico de análise quantitativa dos açúcares (glicose, frutose e sacarose), o presente trabalho foi desenvolvido com o propósito de sistematizar um método de dosagem de açúcares por via química, e validá-lo por meio de estudos de otimização, tendo como ferramenta de apoio a quimiometria aplicada aos dados de respostas das repetições experimentais.

Por haver poucos estudos que tratam do valor nutricional dos produtos das abelhas sem ferrão, necessitando de referências científicos, que servirão no embasamento da elaboração de uma legislação específica a este tipo de mel, e que este trabalho pretende contribuir para o controle de qualidade e o aumento da aceitabilidade no mercado. Deste modo, busca-se investigar sistematicamente a composição química e atender o controle de qualidade local, gerando um procedimento experimental que possa ser aplicado; como também, busca-se estudar o mel de *Melipona fasciculata* com metodologias que permitam em um futuro próximo a geração de um padrão primário, além da adaptação de procedimentos na aplicação no controle de qualidade nestes tipos de méis.



Adaptar métodos físico, químico e bioquímico em méis uruçu-cinzenta (*Melipona fasciculata*) nativa do Nordeste Paraense, para serem aplicados na investigação da composição química deste mel, visando adequar um procedimento no controle de qualidade.

### Objetivo específico

- Traçar um perfil químico, do mel produzido pela abelha uruçu-cinzenta (*Melipona fasciculata*) coletados na Comunidade da Flecheira de Tracuateua do Estado do Pará;
- Identificar substâncias voláteis presentes no mel da uruçu-cinzenta (*M. fasciculata*) coletados da Comunidade da Flecheira de Tracuateua do Estado do Pará;
- Adaptar os métodos de identificação e quantificação dos açúcares; glicose, frutose e sacarose, visando estabelecer um controle de qualidade que possa assegurar a autenticidade de méis produzidos por abelhas sem ferrão;
- Avaliar a estabilidade do mel da uruçu-cinzenta (*M. fasciculata*) em condições acelerada em câmeras de BDO.

## 2.1 Breve visão histórica do mel de abelhas

A produção de mel pelas abelhas é mais antiga que a própria história do homem. Antes da existência do homem, o mel era consumido por diversos mamíferos, por outros insetos e pássaros. Segundo CRANE (1983), quando o homem conheceu o mel, começou a consumi-lo de forma extrativista o qual CRANE o chama de *caça+*, pois o mel era caçado como outros alimentos, sendo posteriormente esta denominação substituída pela apicultura, um hábito que permaneceu quase inalterado por milhares de anos, até que houve um desenvolvimento explosivo na segunda metade do século passado, que abriu caminho para o estabelecimento do mel como produto Mundial. Países como a China, México e a Argentina são os principais países exportadores e a Alemanha e o Japão são os maiores importadores.

Na Espanha, há registro de desenhos descobertos em cavernas, mostrando o homem primitivo colhendo o mel de um enxame com o auxílio de uma escada de cordas presa ao topo de um barranco; como também há no Egito, Mesopotâmia e Grécia; registros que descrevem fatos sobre a criação de abelhas (CRANE, 1983).

No último século, as abelhas (colméias) e seu mel eram considerados valiosos, de modo que as colméias eram deixadas em testamentos. Os roubos das colméias eram considerados crimes graves e os meliantes eram punidos com a morte. Hoje as abelhas melíferas têm extrema importância na alimentação, na produção de cosmético, produtos farmacológicos e na agricultura; sendo responsáveis por grande parte da polinização das flores, bem como na melhoria na quantidade dos frutos. Em especial as abelhas sem ferrão não só garantem a produção de frutos e sementes, como também, são essenciais para a base da cadeia alimentar de muitos animais (CRANE, 1983).

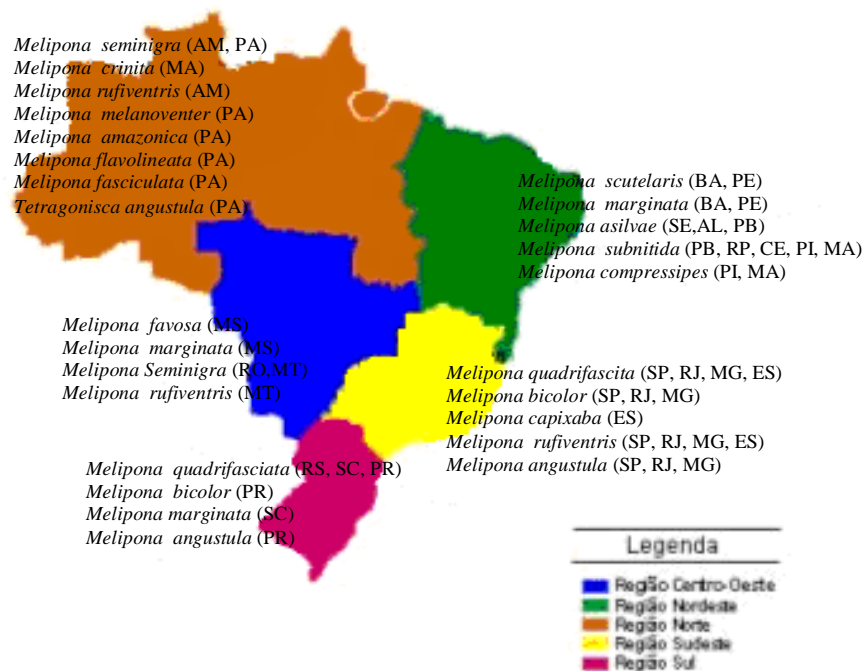
A Bíblia faz inúmeras referências ao mel e enxames de abelhas. A exploração dessa atividade sempre foi feita de maneira muito rudimentar, e os enxames eram quase totalmente destruídos no momento da colheita do mel, tendo que se refazer a cada ano. Mas, com o conhecimento adquirido através dos tempos, hoje o convívio com a abelha é diferente. O apicultor é a pessoa que se encarrega de cultivar os

As colméias artificiais que o homem fornece às abelhas são muito variadas e têm evoluído com o tempo. As colméias mais rústicas eram simples troncos ocos ou cestos de vime. Hoje em dia utilizam-se diferentes tipos de caixas, que são muito mais práticas e fáceis de manejar (CRANE, 1983).

## 2.2 Principais espécies de meliponíneos

Os Meliponíneos, são conhecidas popularmente como abelhas indígenas sem ferrão, são encontradas na América do Sul, América Central, nos Países da Ásia, nas ilhas do Pacífico, na Austrália, na África e em Nova Guiné (COSTA JR, 2000). A família Apidae é formada pela subfamília Apinae; Tribo Apini e subtribo Meliponina, onde está o gênero *Melipona*. As abelhas sem ferrão, são encontradas nas regiões de clima neotropical (América do Sul, Central e Ilhas do Caribe). As principais espécies do gênero *Melipona* são: *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia), *Melipona scutellaris* (uruçu), *Melipona subnitida* (Jandaíra), *Melipona seminigra*, *Melipona amazonica*, *Melipona crinita*, *Melipona rufiventris* e *Melipona melanoventer* (SILVEIRA *et al.*, 2002).

As abelhas estão há mais de 100 milhões de anos na terra e estima-se que existam cerca de 30.000 espécies de abelhas no mundo, sendo que no Brasil, a estimativa é de cerca de 5.000 espécies e dentre estas, 300 espécies são de abelhas indígenas sem ferrão, conhecidas como Meliponíneos. Os meliponíneos por serem espécies nativas das regiões de onde ocorrem, tem dificuldades de se adaptar em outras regiões. Por este motivo, existe uma distribuição das diferentes espécies no território nacional, Figura 1 (COSTA JR, 2000).



**Figura 1:** Principais espécies de abelhas indígenas sem ferrão distribuídas no Mapa do Brasil. Adaptada da fonte: [www.sagri.pa.gov.br/projeto\\_abelha.htm](http://www.sagri.pa.gov.br/projeto_abelha.htm)

### 2.2.1 Abelhas sem ferrão e suas características

Segundo VENTURIERI (2004a), no Estado do Pará, já foram identificadas 70 espécies diferentes de abelhas sem ferrão, porém nem todas produzem méis apropriados ao consumo humano ou em quantidade suficiente para o seu aproveitamento comercial. As espécies mais criadas entre os agricultores do Pará são: urucu-amarela (*Melipona flavolineata*), esta espécie é geralmente encontrada na base de troncos de árvores, próximas de áreas alagadas.

Sua entrada é bem característica, formando uma pequena plataforma com a borda recortada. As abelhas urucu-cinzenta (*M. fasciculata*) (Figura 2 e 3) é uma espécie relativamente rara em áreas de terra firme, mas ainda muito abundante nas regiões costeiras. Produz mel de excelente qualidade e apresenta uma boa produtividade, em geral é menos agressiva que a urucu-amarela. E finalmente, a Jataí (*Tetragonisca angustula*), essas abelhas são muito fáceis de serem encontradas, especialmente porque conseguem construir seus ninhos em uma grande variedade de cavidades, como, por exemplo, dentro de muros e paredes de

s apreciados entre todas as abelhas sem ferrão, contudo, sua produção é muito pequena (VENTURIERI, 2004a).



**Figura 2:** Abelha uruçú-cinzenta (*M. fasciculata*)

Foto: VENTURIERI (2004b)



**Figura 3:** Operaria da abelha uruçú-cinzenta (*M. fasciculata*) guardando a entrada do ninho. Foto: VENTURIERI (2004b)

### 2.2.2 Morfologia e divisão das famílias das abelhas

Na cabeça das abelhas está contida a maioria dos órgãos sensoriais. A glossa funciona como um pincel, ela absorve o néctar das flores; os olhos compostos localizam as flores na presença da luz do sol; os ocelos são usados no

antes para a comunicação entre as abelhas, pois apresentam detectores de sons, vibrações e odores; as mandíbulas servem para defesa e manipulação de cera, resina, pólen e fibras; no tórax se encaixam os apêndices locomotores: dois pares de asas e três pares de pernas, no terceiro par de patas das operárias está a corbícula (Figura 4), é uma tíbia modificada de forma achatada, nesta estrutura podem ser transportadas pólen, barro, resina, fibras e sementes. (VENTURIERI, 2004a)



**Figura 4:** Corbícula da abelha (local onde a abelha carrega o pólen, resina e barro).

Foto: VENTURIERI (2004b)

Os meliponíneos são insetos sociais, possuem suas famílias divididas em castas. A rainha é responsável pela postura dos ovos e coesão da colônia. A rainha depois de fecundada desenvolve seus ovários (Figura 5). Os machos possuem uma mancha clara em sua face, sua antena apresenta um segmento a mais e apresentam ausência de corbícula, pouco participam das atividades da colônia, tendo sua função principal resumida a cópula da rainha durante o vôo nupcial. As operárias são responsáveis pela maioria dos trabalhos como: limpeza, produção de cera, alimentação da rainha, enchimento das células com alimento larval, proteção contra inimigos, coleta de recursos externos (néctar, pólen, resina, barro e fibra) e eliminação dos detritos da colônia (VENTURIERI, 2004a).



**Figura 5:** Rainha com fisogastria (abdome dilatado) ao lado da operária.

Foto: VENTURIERI (2004b)

Os meliponíneos têm como principais características:

- 1) As fêmeas e os machos não possuem ferrão;
- 2) Vida social e comunicação muito desenvolvida;
- 3) Somente as fêmeas operárias possuem corbícula;
- 4) Construção de células de cria e potes de alimentos com cera ou cerume.

### 2.3 Plantas Apícolas

Segundo a Embrapa (2007), existem várias plantas com potencial apícolas para as abelhas sem ferrão, entre elas são:

- As flores do açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart - Arecaceae) são largamente visitadas por abelhas. É uma planta de florescimento nos meses mais chuvosos do ano, quando a oferta de pólen e néctar é reduzida na região amazônica;
- O taxi-branco (*Sclerolobium paniculatum* var. *paniculatum* Vogel - Leguminosae-Caesalpinioideae) suas flores são visitadas por diversos insetos sendo os mais importantes, os Diptera e Apidae. Dentre os Meliponíneos, os mais frequentes visitantes são os do gênero *Scaptotrigona* e *Melipona*;

*ensis* Aubl-Anacardiaceae) é uma importante planta apícola fornecedora de néctar e pólen em grandes quantidades, sendo intensamente visitada por abelhas sem ferrão (Meliponíneos: *Melipona fasciculata* , *M. melinoventer*, *M. flavolineata* , *Trigona sp* , *Paratrigona sp* ), *Apis mellifera* , Halictidae;

- O Paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke . Leguminosae-Caesalpinioideae) é uma planta típica da região Amazônica. Oferta néctar e pólen, suas flores são visitadas por diversos insetos, sendo os mais importantes para a sua polinização as abelhas de médio a grande porte (15-25 mm). Dentre os Meliponíneos, os mais freqüentes visitantes são as abelhas do gênero *Trigona* , *Scaptotrigona* e *Melipona*;
- A Sapateira (*Miconia minutiflora* (Bompl. DC.)-Melastomataceae) necessita de abelhas adaptadas à realização de vibração. A *Melipona flavolineata* (uruçucinzenta) e *M. fasciculata* (uruçu-amarela) coletam o pólen por meio de vibrações fazendo surgir uma "nuvem" de grãos de pólen. É intensamente visitada por abelhas de pequeno a médio porte (2-12 mm), diversas espécies da família Halictidae, e os gêneros *Trigona*, *Scaptotrigona*, *Trigonisca* e *Melipona*, são bastantes freqüentadores em suas flores;
- O Mogno (*Swietenia macrophylla* King - Meliaceae) possui flores aromáticas com antese durante à tarde permanecendo abertas e ofertando néctar durante toda manhã do dia seguinte. O pólen normalmente se adere a glossa do polinizador na ocasião em que este tenta acessar o nectário na base do androceu. Seus principais polinizadores são pequenos lepidópteros e abelhas noturnas do gênero *Megaloptera*. Alguns Meliponíneos dos gêneros *Scaptotrigona* , *Partamona* , *Trigonisca* e *Melipona* visitam suas flores no final do dia e pela manhã. A Fava-de-empigem (*Vatairea guianensis* Aubl. - Leguminosaeae-Papilionoideae) é intensamente visitada por abelhas do gênero *Trigona* , *Melipona* , *Bombus* e *Xylocopa*;
- O Caju (*Anacardium occidentale* L. - Anacardiaceae) é uma planta apícola que oferta a seus visitantes pólen seco, pegajoso com tendência a se manter aderido à antera, mesmo depois da deiscência, é visitada por uma grande



re os quais, destacam-se: abelhas do gênero *Apis* ,  
*Trigona* , *Scaptotrigona* e *Melipona*.

- Dentre as abelhas sem ferrão, somente as espécies do gênero *Melipona* conseguem efetuar eficientemente a polinização no Urucu (*Bixa orellana* L. - Bixaceae), pois a antera desta planta necessita de abelhas que conseguem realizar vibrações, promovendo a liberação dos grãos de pólen contidos no seu interior. Dentre as abelhas vibradoras, as mais freqüentes nas flores de urucu, na região amazônica, são as do gênero *Bombus*, *Xylocopa*, *Epicharis*. Dentre as do gênero *Melipona*, as abelhas mais importantes são: *M. melanoventer*, *M. fasciculata* e *M. seminigra*.

## 2.4 Utilidades do mel de abelha

Os Meliponíneos são na sua maioria especialistas em determinadas florestas, plantas de nossas matas naturais e também da agricultura regional, portanto, fundamentais para a sobrevivência de muitas espécies de plantas, garantindo a produção de frutos e sementes que são essenciais para a base da cadeia alimentar (COSTA JR, 2000).

As abelhas de maneira geral são responsáveis pela reprodução dos vegetais, através da polinização cruzada. A polinização contribui diretamente não apenas para a reprodução de espécies vegetais, como também, para a manutenção e o equilíbrio dos ecossistemas (CRANE, 1983).

O mel é formado pela desidratação e transformação do néctar das plantas pelas abelhas, o qual, em específico, às abelhas indígenas, o armazenam em potes de cerume. Para se extrair o mel é preciso que os potes estejam maduros e fechados (COSTA JR, 2000).

O néctar colhido pelas abelhas é rico em açúcares e após serem transformados pelas abelhas é utilizado como fonte de alimento na colméia. De mesma forma o homem vem usando, há muito tempo, como adoçante natural, pois apresenta fácil digestão. Também apresenta atividade antibiótica natural, cicatrizante, energética e regeneradora dos tecidos, além da eficácia no alívio de

também, muito utilizado no tratamento das afecções das vias respiratórias (NOGUEIRA-NETO, 1997).

O mel é um produto de ampla utilização, podendo ser usado interna ou externamente, em tinturas, pomadas, balas, sabonetes, xampu, ungüentos e xaropes. Na culinária, pode substituir o açúcar em bolos, pudins, cereais, pães e outros alimentos. Este produto é rico em componentes energéticos e terapêuticos; contém minerais como cálcio, enxofre, ferro, cobre, cloro, sódio, fósforo e magnésio. Possui ação estimulante, digestiva e reconstituente (NOGUEIRA-NETO, 1997).

## 2.5 Visão geral da composição do mel de abelhas

O mel é obtido a partir do néctar de uma determinada planta, a qualidade depende de sua origem floral, concentração do néctar, quantidade de flores visitada pela abelha e número de dias em que as flores estão secretando o néctar. A qualidade do mel também depende das concentrações e proporções de seus carboidratos, minerais e vitaminas, entre outros, constituindo a base da composição final. A variação da composição física e química do mel é comumente encontrada, uma vez que vários fatores interferem na sua qualidade, tal como: condições climáticas, grau de maturação, espécie de abelha, processamento e armazenamento, além do tipo de florada (CRANE, 1983).

Segundo WHITE JR (1978), a composição do mel depende, basicamente, da composição do néctar de cada espécie vegetal produtora, conferindo-lhe características próprias, portanto o manejo do apicultor tem menor influência.

As características físico-químicas, ainda são pouco conhecidas, principalmente, nas regiões tropicais onde existe uma elevada diversidade da flora apícola associada às taxas elevadas de umidade e temperatura (SODRÉ, 2000).

## 2.6 Açúcares e sua presença em méis de abelha

Segundo WHITE JR (1978), os açúcares encontrados no mel são: glicose, frutose, sacarose, maltose, isomaltose, xilose, questose, melezitose, rafanose, dextrantiose, 4-glicosildextrantriose e um oligossacarídeo. Estes açúcares

higroscopicidade, granulações e valor energético dos méis. A glicose é um açúcar relativamente insolúvel no meio e sua quantidade determina, em grande escala, a tendência a cristalização.

Os monossacarídeos são predominantes na composição do mel, variando de 85 a 95%. A glicose, por ter pouca solubilidade, determina a tendência da cristalização e a frutose por ter alta higroscopicidade possibilita a doçura (WHITE JR, 1978).

Entre os dissacarídeos a sacarose representa, em média, 2 a 3% dos carboidratos presente no mel e quando superior a este valor geralmente indica um mel verde ou adulterado. A sacarose quando sofre a hidrólise, pela ação de ácidos diluídos ou pela ação de enzimas (invertase), resulta em dois monossacarídeos: frutose e glicose (WHITE JR, 1978).

Segundo NEKRASOV (1978), todos os carboidratos são sólidos, e freqüentemente são substâncias cristalinas. Muitos mono e dissacarídeos são rapidamente solubilizados em água e são precipitados da solução como hidratos cristalinos. Quando aquecidos apresentam diferentes pontos de ebulição, o que os caracteriza.

Nos parâmetros físico-químicos de qualidade, o teor de açúcares redutores permitidos no mel, deve estar no mínimo 65% (BRASIL, 2000); (MERCOSUL, 1999) e para CAC (1990), é aceitável no mínimo 60%. Para a sacarose os teores permitidos são no máximo 6% (BRASIL, 2000); (MERCOSUL, 1999) e para CAC (1990), é aceitável no máximo 5%.

## 2.7 Umidade versus processo fermentativo no mel de abelha

O teor de água no mel é considerado o segundo componente de qualidade na composição deste produto, geralmente varia de 15 a 21% em méis de *A. mellifera*, dependendo do clima, origem floral e da colheita. O conteúdo de água é uma das características mais importante na sua viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor, conservação e palatabilidade. Os microorganismos osmofílicos (tolerante aos açúcares) presentes nos corpos das abelhas, no néctar, no solo, nas áreas de extração e armazenamento podem provocar fermentação quando o teor de água for muito elevado (ALMEIDA, 2002).

A cera que fecha os opérculos na colméia impede a entrada de água e evita o risco de fermentação. Quando o mel atinge 18% de água, a atividade da água ( $a_w$ ) aumenta, facilitando a fermentação por leveduras osmofílicas (SCHWEITZER, 2001).

Quando o mel não é tratado com temperatura elevada (pasteurização), podem desenvolver as leveduras como: *Zygosaccharomyces rouxii* e *Z. bisporus*. As bactérias mais freqüentes que podem desenvolver são: *Gluconobacter* e *Lactobacillus*, as quais desaparecem quando o conteúdo de água decresce para 18%. Durante a extração do mel, sua concentração de água é de 18%, correspondendo atividade de água ( $a_w$ ) de 0,60. A  $a_w$  mínima para o crescimento de um grupo de levedura osmotolerante deve ser superior a 0,68. Os equipamentos e utensílios devem ser bem higienizados para não ocorrer contaminação (LEGLER, 2000).

Segundo BRASIL (2000); MERCOSUL (1999); CAC (1990) consideram como parâmetro de qualidade para méis de *A. mellifera*, o mel que contenha no máximo 20% de umidade. Para méis de abelhas sem ferrão, VILLAS-BÔAS e MALASPINA (2005), consideram que o mel contenha no máximo 35% de umidade.

Conforme o conteúdo de água, o número de microorganismo presente a uma determinada temperatura é possível identificar quando o mel fermentará. Todos os méis naturais contêm leveduras tolerantes ao açúcar, das quais foram identificadas espécies pertencentes aos gêneros de *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Nematospora*, *Schizosaccharomyces*, *Schiwanniomyces* e *Torula*. O néctar e o melato contêm leveduras, e outras mais podem vir do corpo da abelha, do solo ao redor da colméia, do ar no apiário e dos equipamentos utilizados no processamento (CRANE, 1983).

## 2.8 A presença de Hidroximetilfurfural em méis de abelha

O hidroximetilfurfural (HMF) é formado pela reação de certos açúcares em presença de ácidos. O seu conteúdo pode aumentar com a elevação da temperatura, armazenamento do mel, a adição de açúcar invertido, a acidez, o pH, a água e os minerais (WHITE JR, 1976).

O HMF pode ser uma indicação de alteração das propriedades físico-química e organolépticas ou tensão elevada de calor do material contendo açúcar. O aquecimento é essencial nas diversas fases de extração e manipulação do mel, porém o calor excessivo é prejudicial, conduzindo a produção de hidroximetilfurfural (HMF) o qual provoca escurecimento, gerando menor qualidade do produto. As temperaturas em torno de 71 a 77°C servem para destruir a maior parte das leveduras osmofílicas presentes, porém modificam a cor do mel e reduzem a cristalização (CRANE, 1983; SCHWEITZER, 2001).

O HMF é um indicador de qualidade no mel, quando seu teor está elevado indica uma queda no seu valor nutritivo, pela destruição, por meio de aquecimento, de algumas vitaminas e enzimas que são termolábeis (VERÍSSIMO, 1998; RÊGO *et al*, 2002). Porém segundo CARVALHO e colaboradores (2005), em países subtropicais os méis podem ter naturalmente um alto conteúdo de HMF sem que o mesmo tenha sido superaquecido ou adulterado, eis o motivo pelo qual é importante saber a procedência do mel.

Segundo BRASIL (2000); MERCOSUL (1999), é considerado como parâmetros de qualidade o mel que tenha no máximo 60mg.kg<sup>-1</sup> de HMF, sendo que para CAC (1990) os teores podem atingir no máximo 80mg.kg<sup>-1</sup> em regiões tropicais.

## 2.9 Atividade diastásica em méis de abelha

Segundo AMMON, 1949; RINAUDO, 1973; CRANE, 1983 a diastase (conjunto de amilases) é produzida pelas glândulas hipofaríngeas das abelhas e ocorre também em plantas, é adicionada pela abelha ao mel durante sua manipulação e conversão do néctar em mel. A diastase quebra o amido, estando envolvida na digestão de pólen. De acordo com WHITE (1994) alguns méis necessitam de um tempo maior de manipulação, tendo, por isso, quantidades variáveis da enzima nos diferentes tipos de mel, de acordo com o grau de hidratação do néctar.

Sua relevância principal para o mel é que ela é mais sensível ao calor que a invertase (CRANE, 1983).

ação vigente estabelecida pelo o Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000) o valor mínimo da atividade diastásica no mel é de 8 na escala de Göthe e os méis com baixo conteúdo enzimático deverão ter no mínimo uma atividade diastásica correspondente a 3 da escala de Göthe, sempre que o conteúdo de hidroximetilfurfural não exceda a 15mg/kg.

BIANCHI (1989), estudando méis silvestres, encontrou um valor médio da atividade diastásica de 17,65 DN. Já MELO (2002), analisando méis da florada de baraúna, encontrou 13,27 DN.

## 2.10 Resíduo mineral fixo (RMF) presente em méis de abelha

O teor de cinzas expressa a riqueza do mel em minerais, e constitui-se um parâmetro bastante utilizado nas determinações que visam verificar sua qualidade. Os sais minerais encontrados no mel podem ser modificados por fatores relativos, ao apicultor, clima, solo e flora (LASCEVE e GONMET, 1974).

Segundo ALMEIDA (2002), o conteúdo de cinzas no mel é um critério de qualidade e está relacionado com a sua origem botânica. A possibilidade de modificação de espectro mineral do mel devido a uma quantidade maior de pólen, quando o favo com pólen é prensado.

Para ORTIZ-VALBUENA (1988), o conteúdo de cinzas está correlacionado com a cor do mel, pois quanto mais escuro é o mel mais cinzas ele contém.

Segundo os parâmetros físico-químicos de qualidade estabelecidos pela BRASIL (2000); MERCOSUL (1999), o teor de RMF no mel deve apresentar no máximo 0,6%.

Foram encontrados valores de RMF de 0,02 a 0,40% em amostra de méis da tribo meliponini (VIT *et al.*, 1998); 0,03% a 0,40% em méis de Melipona (SOUZA *et al.*, 2004b) e; DANTAS e colaboradores, (1998) encontraram teores de cinzas 0,03% a 0,71% no mel de abelhas sem ferrão no Estado do Acre.

Os conteúdos de minerais, muitas vezes referidos, como metais, também são considerados na maioria das análises físico-químicas dos méis. Os minerais influenciam diretamente na coloração do mel, estando presentes em maiores concentrações nos méis escuros em comparação com os claros.

nel inúmeros elementos químicos, tais como: K, Na, Ca, Mg, Mn, Ti, Co, Fé, Cu, Li, Ni, Pb, Sn, Os, Ba, Ga, Bi, Ag, AU, Ge, Sr, Be, Va, Zn (WHITE JR, 1976); sendo que, LOPEZ e colaboradores, (1999) encontraram valores de Ca 47( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), Mg 16( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e Zn 1,2( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e HERNÁNDEZ e colaboradores, (2004) encontraram valores de Ca 57,3( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), Cu 0,44( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), Fe 1,52-1,90( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), Mg 28,4( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e Zn 1,18( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

### 2.11 Influencia do pH em méis de abelha

O pH refere-se aos íons hidrogênio presentes numa solução e pode influenciar na formação de outros componentes no mel, como na velocidade de produção de hidroximetilfurfural (HMF) (VIDAL e FREGOSI, 1984).

Todos os méis são ácidos e o pH é influenciado pela origem botânica, pela concentração de diferentes ácidos e pelo cálcio, sódio potássio, e outros constituintes do mel (ALMEIDA, 2002).

### 2.12 Acidicidade do mel de abelha

A acididade (também denominado de acidez) é um importante componente do mel contribuindo para a sua estabilidade, frente ao desenvolvimento de microorganismos. Os ácidos dos méis estão dissolvidos em solução aquosa e produzem íons hidrogênio que promoveram a sua acidez ativa, permitindo assim, identificar as condições de armazenamento e o processo de fermentação (SEMANN e NEIRA, 1988).

Os ácidos orgânicos mais comuns encontrados no mel de abelha são os: acético, benzóico, butirico, cítrico, fenilacético, fórmico, glucônico, isovalérico, láctico, málico, oxalaco, propiônico, piroglutânico, succinico e valérico. Pela ação da glicose oxidase o ácido glucônico em equilíbrio com a glico-lactona é o principal ácido formado (SEMANN e NEIRA, 1988).

Para ALMEIDA (2002), a ação de transformação é mais lenta em méis mais densos e é influenciada pela quantidade de ácidos obtidos no tempo que transcorre

máximo do volume do néctar que é depositado nos favos.

Segundo BRASIL (2000); MERCOSUL (1999); CAC (1990), os parâmetros físico-químicos de qualidade sobre a acidez estabelecido no mel, deve estar no máximo com  $50 \text{ meq.kg}^{-1}$ .

## 2.13 Compostos fenólicos

O mel e o própolis são ricos em compostos fenólicos, muitas das terapias milenares de civilizações antigas, utilizaram os produtos das abelhas como valiosos recursos terapêuticos e conservativos. As análises de flavonóides e outros compostos fenólicos podem também ser utilizados como um marcador, identificando a procedência e determinando a origem botânica, possibilitando, assim, a autenticidade de cada tipo de mel (SABATIER *et al.*1988); (AMIOT *et al.*1989); (FERRERES *et al.*1998); (MARTOS *et al.*2000); (TOMÁS-BARBERÁN *et al.* 2001).

Os flavonóides são substâncias fenólicas de baixo peso molecular que têm como base um núcleo flavana, constituído de 15 carbonos dispostos numa configuração  $C_6-C_3-C_6$ . Segundo COOK e SAMMAN (1996), a atividade bioquímica dos flavonóides e seus derivados dependem da estrutura química e orientação relativa das várias partes da molécula.

A presença de compostos fenólicos, em méis, principalmente os flavonóides, explicam em parte a grande diversidade de propriedades biológicas relatadas na literatura (PARK *et al.*, 1995; BANSKOTA *et al.*, 1998).

FERRERES e colaboradores, (1991) e AMIOT e colaboradores, (1989), encontraram compostos fenólicos em mel de abelha, e os identificou como flavonóides. Entre os flavonóides presentes no mel, a flavanona pinocembrina tem sido relatada e estudada por sua atividade antibacteriana (BERAHIA *et al.*,1993).

Outros estudos também demonstraram a presença dos flavonóides pinobanksina (RIBEIRO-CAMPOS *et al.*, 1990), galangina e crisina (SABATIER *et al.*, 1992), kanferol (FERRERES *et al.*, 1998) e ácido benzóico e cinâmico (WESTON *et al.*, 1999).



## abelha

O mel de abelha apresenta as seguintes características:

a) Características físicas: O mel de abelha apresenta o aroma e sabor variável, conforme a planta ou plantas de onde provém o néctar, não devendo apresentar qualquer cheiro ou sabor anormais, contaminado por substâncias estranhas durante a sua extração ou armazenamento. A consistência do mel pode apresentar-se fluido, espesso ou cristalizado (em parte ou na totalidade) (BARRADAS, 2002). O mel de abelhas sem ferrão apresenta composição diferente do mel de *Apis mellifera*, é mais fluido e cristaliza lentamente (CAMPOS e PERUQUETTI, 1999).

Os carboidratos representam a maior porção da matéria seca do mel, sendo responsáveis pela qualidade e propriedades físicas, tais como: viscosidade, higroscopicidade, granulométrica, valor energético e atividade antibiótica (WHITE JR, 1989).

b) Característica de coloração: A cor do mel de abelha pode ir desde uma tonalidade quase incolor ao pardo escuro em comparação a coloração do mel de melaço (cana-de-açúcar) vai do castanho claro ao esverdeado escuro (BRASIL, 2000; MERCOSUL, 1999).

A cor é uma característica do mel que mais influencia na preferência do consumidor, que na maioria das vezes, este produto é escolhido apenas pela sua aparência. Tal é a relevância deste parâmetro que o Internacional Trade Fórum, considerou a cor como uma das características mais relevante ao mercado internacional.

A cor do mel está correlacionada com sua origem floral, processamento, armazenamento, fatores climáticos durante o fluxo do néctar e a temperatura na qual o mel amadurasse na colméia (SEEMENN e NEIRA, 1988).

A proporção de frutose, glicose, nitrogênio, aminoácidos livres, conteúdo de minerais, a instabilidade da frutose em solução ácida e a reação de substâncias polifenólicas com sais de ferro, são fatores que determinam a velocidade do escurecimento do mel (ALMEIDA, 2002).

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

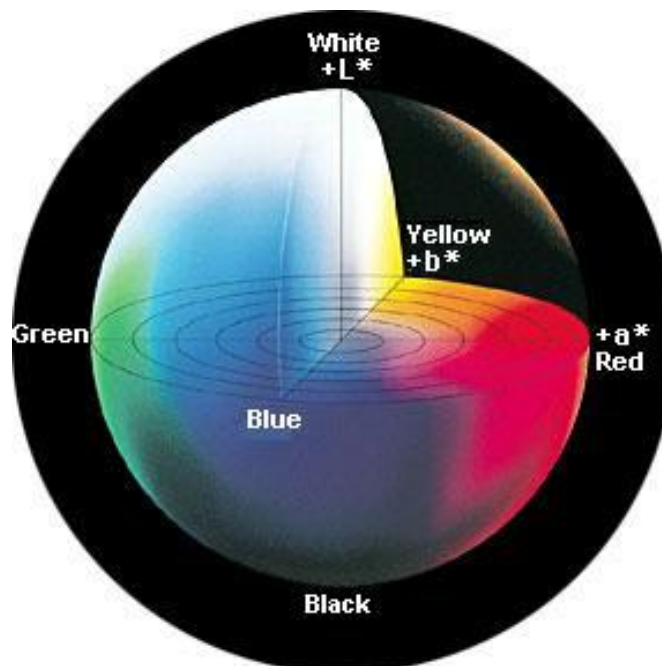
A determinação da cor é fundamental para poder reproduzi-la com precisão, em especial, nas artes gráficas, arquitetura e sinalização. Devido ao fato de se poder interpretar que dois diferentes espectros de luz que tem o mesmo efeito nos receptores do olho humano (células cones) onde serão percebidos como sendo a mesma cor. Existem diversos métodos para medição da cor, tais como os modelos de cores, círculo cromático (Figura 6) e as a Tabelas de cores (Tabelas 1 e 2).

### Percepção de cores

A cor é percebida através da visão. O olho humano é capaz de perceber a cor através dos cones (Células cones). A percepção da cor é muito importante para compreender o ambiente.
















### Círculo cromático

A cor pode ser representada utilizando-se um círculo cromático, Figura 6. Um círculo de cor é uma maneira de representar o espectro visível de forma circular. As cores são arrumadas em seqüência em uma circunferência na ordem da freqüência espectral.



**Figura 6:** Círculo cromático. Fonte: MINOLTA, 1994.

**Tabela 1:** Tabelas de cores

Nome	Aparência
Preta	
Cinza escura	
Cinza	
Branca	
Amarela	
Laranja	
Vermelha	
Magenta	
Violeta	
Azul escura	
Azul	
Ciano	
Verde escura	
Verde médio	
Verde	

**Tabela 2:** Tabelas de cores do espectro visível

Cor	Comprimento de onda (nm)	Frequência (Hz)
Vermelho	625-740	480-405
Laranja	590-625	510-480
Amarelo	565-590	530-510
Verde	500-565	600-530
Ciano	485-500	620-600
Azul	440-485	680-620
violeta	380-440	790-680

c) característica do Aroma: O aroma, sabor e a cor do produto são variáveis em função da sua origem floral e, para fins de comercialização, o mel pode ser classificado de acordo com sua origem botânica e procedimento de obtenção (CRANE, 1983).

As substâncias odoríferas são compostos voláteis detectadas por receptores olfativos. A quantidade de substâncias voláteis que estão presentes nos alimentos é muito pequena (10-50mg/kg) em combinação com a fermentação que pode conter

is (BELITZ e GROSCH, 1997; FISHER e SCOTT, 1997).

Embora pareça existir um "flavor" característico de mel, a grande variedade de flores disponíveis para a abelha, possibilita uma grande diversidade de "flavor". Além disto, vários outros fatores podem contribuir para o "flavor" do mel como a própria fisiologia da abelha, procedimentos após a colheita em relação ao aquecimento, estocagem, entre outros. Os ésteres do ácido fenil acético possuem o odor e "flavor" típicos do mel (BELITZ e GROSCH, 1997).

A caracterização de um mel unifloral, em alguns casos já pode ser feita pela determinação dos voláteis. O mel de laranjeira é assim classificado quando apresenta no mínimo 0,5% de antranilato de metila. O mel de *Tília* spp, apresenta o composto 8-p-menteno-1,2 diol; o mel de *Calluna vulgaris*, o ácido fenil láctico, e o mel de *Brassica napus var. oleifera*, o ácido fenilpropiônico. No mel de eucalipto, entre várias substâncias, estão a acetoina (3-hidroxi-2-butano-na), octano, nonano e 2,5-hexanodiol (CAMPOS *et al.*, 2000).

O aroma e o sabor característicos são conferidos aos alimentos pela presença das substâncias voláteis. Em geral, os compostos voláteis mais agradáveis do mel são aqueles com menor ponto de ebulição. O aroma e o sabor estão no seu ponto ótimo quando o mel é retirado diretamente da colméia, pois podem ser modificados pelo processamento (CHERCHI *et al.*, 1997).

O envelhecimento do mel leva a uma perda de seu aroma característico, devido ao aparecimento de substâncias como álcoois superiores, quando ocorre contaminação microbológica principalmente leveduras durante o armazenamento e processamento modificam o aroma do mel, devido a formação de compostos alcoólicos e compostos furânicos, relacionados à degradação de açúcares presentes no mel (CHERCHI *et al.*, 1997; BASTOS *et al.*, 2002). Assim, a utilização de compostos voláteis, presentes em méis como marcadores químicos, deve seguir a presença de variáveis como tempo de armazenamento, processamento e presença de microrganismos, notadamente leveduras (BASTOS *et al.*, 2002).

### 3.1 Obtenção dos méis

As amostras de méis produzidas pela espécie uruçú-cinzenta (*Melipona fasciculata*), foram fornecidas pelos criadores da comunidade da Flecheira em Tracuateua-PA. A pesquisa tem como parceira a Embrapa Amazônia Oriental.

As amostras foram coletadas em novembro de 2005, mês de maior produtividade. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Química . LabISisBio, da Universidade Federal do Pará. Foi utilizada a análise de variância, para fins de comparação entre as médias, com 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 2000).

### 3.2 Colheita e armazenamento

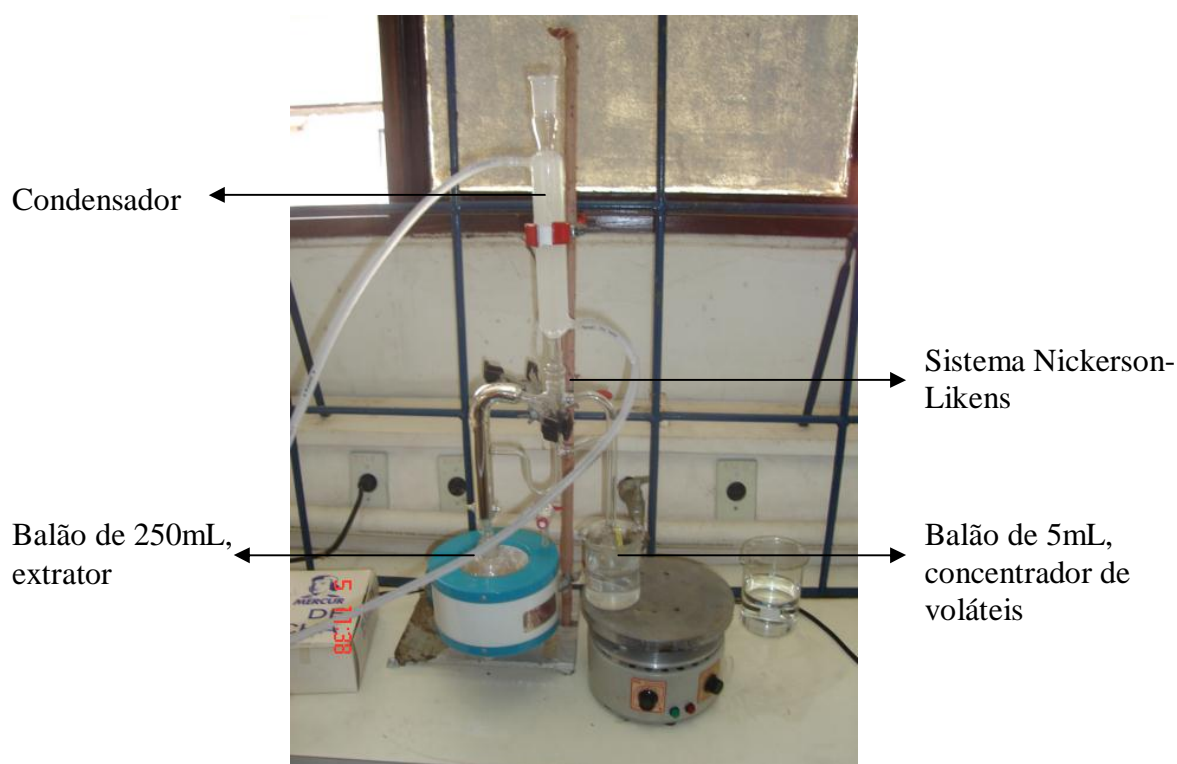
A retirada do mel das colméias das abelhas nativas foi feita da seguinte maneira: os potes (Figura 7) foram perfurados com uma faca, posteriormente a melgueira foi virada sobre o recipiente plástico contendo uma tela para filtração do mel, como também, servindo de proteção de eventuais abelhas que poderiam cair no mel recolhido. O mel coletado de várias melgueiras formou uma só amostra representativa da comunidade da Flecheira, onde foi armazenado em um recipiente plástico limpo de 5L e levado para a Universidade Federal do Pará.- Laboratórios de Química . LabISisBio, o qual foi mantido a temperatura de  $\pm 5^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 7:** Melgueira totalmente preenchida com potes de mel de uruçú-cinzenta (*M. fasciculata*), comunidade da Flecheira . Tracuateua. Foto: Giorgio Venturieri.

## is silvestres

O sistema SDE (Extração por destilação Simultânea - EDS) de Nickerson-Likens, foi utilizado para concentrar e obter os voláteis, Figura 8. Em um balão extrator de fundo redondo de 250mL foram adicionados 10mL de mel e 10mL de água desionizada. No balão concentrador do tipo pêra de 20mL adicionou-se 10mL de n-pentano PA. Os balões foram acoplados simultaneamente no sistema, de forma que o balão extrator foi aquecido por uma manta a 100°C e o balão concentrador foi aquecido em banho-maria a uma temperatura de 50°C. No topo do sistema foi acoplado um condensador que operou com refrigeração de 5°C através da circulação realizada por um refrigerador com circulação de etanol:H<sub>2</sub>O (70:30), com uma vazão de 8L/min. A extração foi realizada em um período de 3h. Após este período os voláteis concentrados no balão coletor foram transferidos para um frasco âmbar de 2mL com tampa de rosca e septo e, enviado para análise de CG/EM (Cromatografia a Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas).



**Figura 8:** Sistema de extração de voláteis - SDE

## **Por CG/EM (Cromatografia gasosa acoplada a Espectrometria de Massas)**

Os voláteis foram analisados em sistema CG/EM (cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas). Alíquotas de 0,1µl da amostra foram injetadas, nas seguintes condições:

Temperatura do injetor: 250°C; Fonte de íon: 200°C; Injeção tipo Splitless; coluna DB5 30m x 0,25 m x 0,25mm DI; programação de temperatura iniciado em 60°C com acréscimo de 3°C/ min. até 240°C. A velocidade do gás de arraste foi de 32 cm/s. O espectro de massa operou a 70 eV(IE) com varredura de 25-350 U.M.A. A identificação dos voláteis foi realizada através dos índices de Kovats dos espectros de massas de acordo com ADAMS, (1989); ANDRADE *e colaboradores* (1997).

### **3.3.2 Identificação das substâncias voláteis presente no mel de abelha**

Para obtenção dos Índices de Kovats, uma mistura de padrões de alcanos (C9-C20) foi preparada usando-se hexano como solvente. Co-injeções da amostra e da mistura dos padrões forneceram os valores experimentais dos Índices de Kovats nas condições cromatográficas (ADAMS, 1989).

### **3.4 Análise de açúcares em méis silvestres:**

#### **a) Determinação de açúcares redutores pelo método do Ácido 3,5-Dinitrossalicílico (ADNS).**

Os açúcares redutores foram determinados pelo método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (ADNS) conforme a metodologia descrita por MULLER, (1959); REED *e colaboradores* (1998) adaptação por MATISSEK *e colaboradores* (1998). Os açúcares são %transparentes+ para a maioria dos comprimentos de onda, não podendo ser quantificados especificamente por absorção em alguns comprimentos de onda. Para quantificá-los recorreremos a um método colorimétrico pelo reagente

), o qual reage apenas com as moléculas redutoras originando uma cor cuja intensidade é diretamente proporcional á concentração dessas moléculas.

A curva de quantificação foi construída utilizando-se as seguintes concentrações de uma solução de glicose: 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,3; 0,5 (mg/mL) e 0,5mL do reagente DNS em cada tubo de ensaio (Tabela 3). Os tubos foram colocados a num banho-maria a 100\_C durante 3 minutos, em seguida adicionou-se 5mL de água destilada. Realizou-se a leitura a 540nm em um espectrofotômetro UV-visível, modelo GBC 911. O %branco+ e as amostras de méis de abelhas sem ferrão foram preparadas nas mesmas condições experimentais. A curva de quantificação de glicose para quantificação de açúcares redutores pelo método ADNS está representada pela Figura 9.

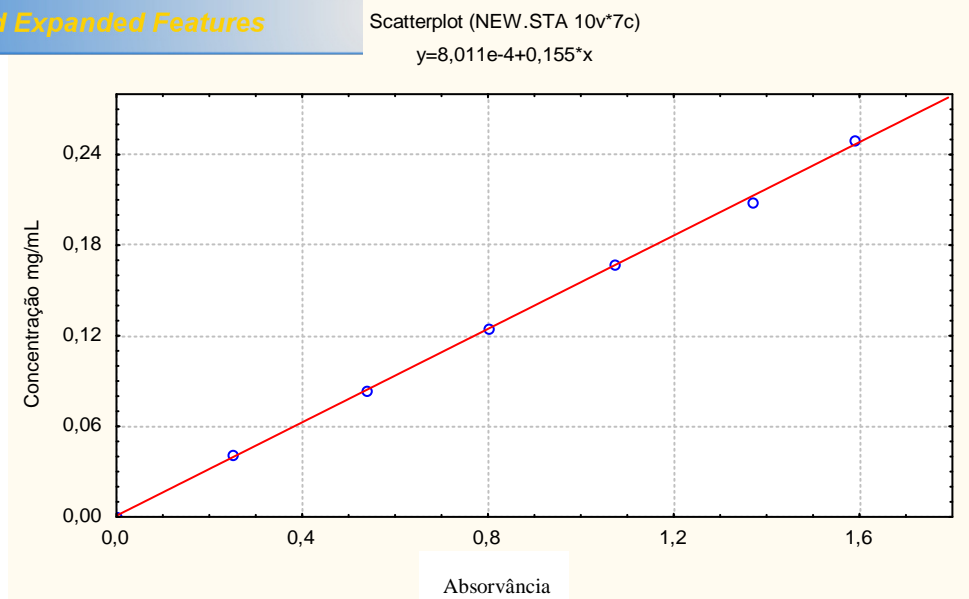
*Reta de Quantificação:*

**Tabela 3:** Concentração de açucare e reagentes em condições experimentais.

Solução	Concentração de açúcares redutores								
	Branco	10%	20%	30%	40%	50%	60%	100%	Mel de abelha
Sol. A (mL)*	0	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,5	0,20
H <sub>2</sub> O (mL)	0,5	0,45	0,4	0,35	0,3	0,25	0,2	0	0,30
DNS (mL)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
H <sub>2</sub> O (mL)	5	5	5	5	5	5	5	5	5

\*Solução de glicose (Sol. A): 1g/100mL





**Figura 9:** Curva de quantificação de glicose para quantificação de açúcares redutores pelo método ADNS. Coeficiente de correlação:  $R^2 = 0,99933$

### b) Determinação de açúcares redutores totais pelo método do ADNS

Os açúcares totais são formados por açúcares redutores e não redutores. Os açúcares não redutores são convertidos a açúcares redutores pela hidrólise. A hidrólise dos açúcares totais foi realizado através da adaptação da metodologia de MATISSEK e colaboradores, (1998). Retirou-se 1mL da solução de mel (diluída com água desionizada) e adicionou-se 1mL de HCl 1M, e foi aquecido em um banho-maria a 100°C por 3 minutos, este foi neutralizado com NaOH 1N e esfriado até atingir a temperatura ambiente. Em seguida foi retirada uma alíquota para determinação dos açúcares totais, o procedimento para quantificação dos açúcares totais é o mesmo procedimento utilizado para os açúcares redutores no item 3.4 (SILVA *et al.*, 2003).

### c) Determinação de cetose pelo reagente de Selliwanoff.

Utilizou-se a solução de Selliwanoff, preparado segundo procedimento (SELLIWANOFF, 1887) adaptado por Santos (2006) (LabSisBio, 2007), (método adaptado não descrito por motivo de sigilo do laboratório que o utiliza para o controle de qualidade)

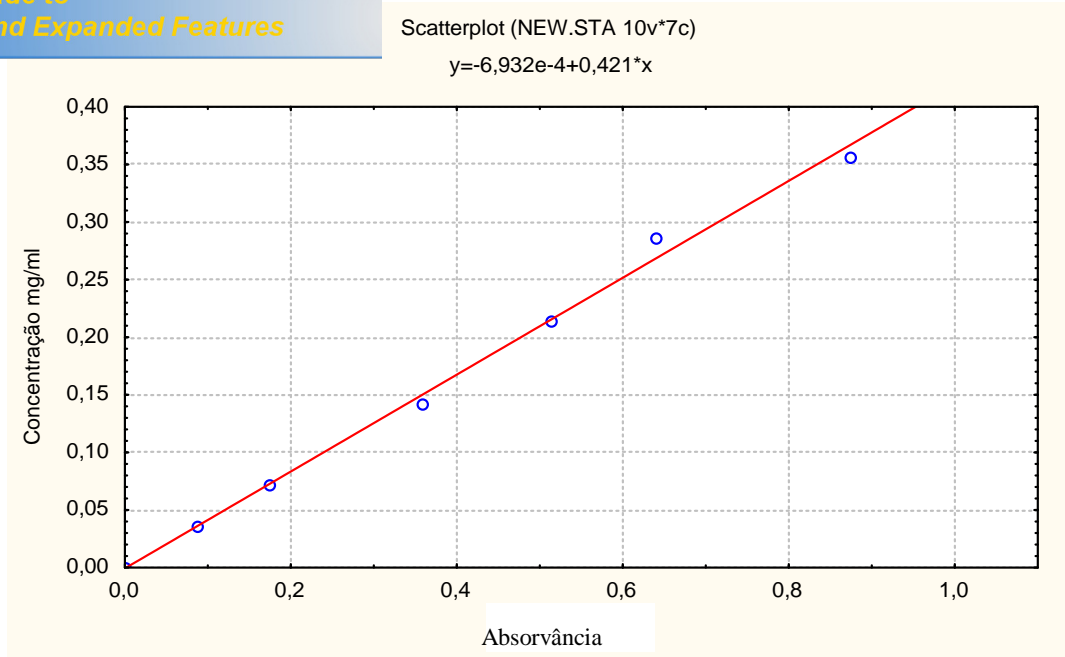
**- Avaliação do tempo ótimo de reação para o reagente de Selliwanoff e determinação do  $\lambda_{max}$ .**

Foram preparados padrões de glicose, frutose e sacarose em concentração de 150mg/100mL. Deste foi retirado 200 $\mu$ L de cada solução padrão de açúcar e colocados em tubos de ensaios, e adicionados 4mL do reagente de Selliwanoff em cada tubo. Estes tubos foram colocados em um banho-maria em ebulição durante os seguintes intervalos de tempos: 1, 2, 3, 4, 5, 7 e 10 minutos. Após o resfriamento as amostras foram analisadas em um espectrofotômetro UV-visível, modelo GBC 911, para se determinar o  $\lambda_{max}$ .

**c.1) Análise quantitativa de Selliwanoff para frutose totais**

• **Curva de quantificação:**

A curva de quantificação foi traçada por meio da preparação de uma solução de frutose (150mg/100mL). A partir desta solução foram feitos diluições correspondentes a 100, 80, 60, 40, 20 e 10% da concentração mãe, o que corresponde a soluções com concentrações de 150; 120; 90; 60; 30 e 15mg/100mL, preparadas em balões volumétricos de 100mL individualmente. Alíquotas de 200 $\mu$ L foram retiradas destes balões e individualmente colocadas em tubos de ensaio junto com 4mL do reagente de Selliwanoff. Os tubos foram postos em um banho-maria a 100°C durante 3 minutos. Realizou-se a leitura no espectrofotômetro a 486nm. A curva de quantificação foi traçada com valores de Absorvância em ordem das concentrações de frutose, em mg/mL (Figura 10).



**Figura 10:** Curva padrão de quantificação de frutose pelo método de Selliwanoff.

Coeficiente de correlação:  $R^2 = 0,99283$

- **Teste de Selliwanoff para frutose em méis de abelha:**

Em três tubos de ensaio adicionou-se 200µL da solução de mel de abelha juntamente com 4mL do reagente de Selliwanoff, esses foram postos em um banho-maria em ebulição durante 3 minutos e lidos em um espectrofotômetro a 486nm.

**d) Cálculo de concentração de açúcares: Açúcares Redutores (Frutose + Glicose); açúcares redutores totais e Sacarose.**

Segundo LEHNINGER (2002), o aquecimento até a ebulição, em condições fortemente ácidas, garante que a sacarose seja hidrolisada, aumentando assim 18 unidades de massa atômica, devido à adição de H<sub>2</sub>O nos dois dímeros, aumentando a massa molecular de 342 (da sacarose), para 360 (glicose + frutose), o que corresponde 95% m/m do peso da sacarose em relação ao açúcar invertido. Assim, a porcentagem de sacarose, açúcares redutores (pelo método do DNS), açúcares

ose total e glicose de uma amostra são calculadas

pelas seguintes fórmulas:

- % sacarose = (% açúcares redutores totais - % açúcares redutores) x 0,95
- % Frutose total (FT) = (frutose livre + frutose presente na sacarose hidrolisada (reagente de Selliwanoff));
- % frutose livre = (% frutose total (pelo método de Selliwanoff) . % frutose da sacarose hidrolisada);
- % glicose = (% Açúcares redutores . % frutose livre);
- % Açúcares redutores (AR) = glicose + frutose livres (pelo método do ADNS).

#### **e) Avaliação qualitativa de frutose utilizando-se o reagente de Benedict.**

O reagente de Benedict foi usado para fazer o teste qualitativo de cetoses. O preparo do reagente de Benedict foi feito da seguinte maneira:

Solução I: Dissolveu-se em 30mL de água destilada quente 6g de citrato de sódio e 3,5g de carbonato de sódio. Filtrou-se em seguida e adicionou-se no filtrado 1,7mL de água destilada.

Solução II: em seguida dissolveu-se 0,6g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em 5mL de água;

Solução III: em um Béquer, lentamente, adicionou-se a solução II na solução I.

Teste:

Em três tubos de ensaio foram adicionados separadamente:

Tubo1: Amostra (1mL);

Tubo 2: Glicose (1mL);

Tubo 3: Frutose (1mL).

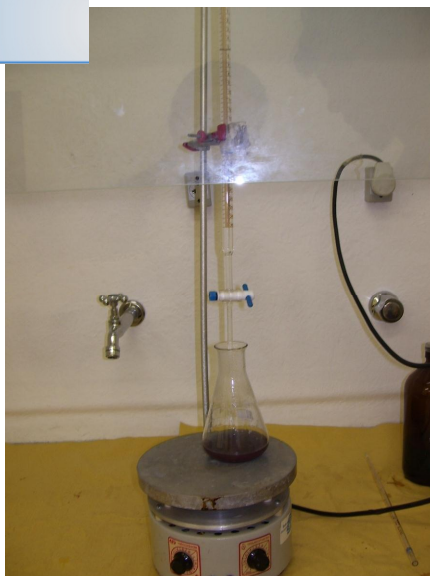
Separadamente foi adicionado 5mL do reagente de Benedict em cada tubo de ensaio. Os tubos foram mantidos em banho-maria à 100°C durante 5 minutos e resfriado em água corrente. Em seguida foram analisados visualmente.

## Açúcares redutores pelo método Titulométrico

A determinação titulométrica, trata-se do procedimento de Lane-Eynon, este método é baseado na capacidade dos açúcares redutores, como glicose e frutose, reduzirem o cobre presente na solução cupro-alcalina (Solução de Fehling A + Fehling B, modificadas por Soxhlet), sob ebulição (BOGDANOV; MARTIN; LÜLLMANN, 1997; CECCHI, 1999; KOMATSU, 1996). Em meio alcalino, os íons cúpricos  $\text{Cu}^{2+}$  são reduzidos a cuproso  $\text{Cu}^+$ , e os açúcares são oxidados a ácidos orgânicos (KOMATSU, 1996). A solução muda da cor azul para vermelho tijolo, e deve ficar constantemente em ebulição durante a titulação, porque o  $\text{Cu}_2\text{O}$  formado pode ser novamente oxidado pelo  $\text{O}_2$  do ar, voltando a apresentar a cor azul. A titulação deve levar no máximo 3 minutos, porque pode haver decomposição dos açúcares com o aquecimento prolongado (CECCHI, 1999).

Dissolveu-se 5g de mel em água desionizada em um balão volumétrico de 25mL (considerada solução mãe para determinação de açúcares redutores e sacarose aparente). Em seguida foram transferidos 2mL dessa solução para outro balão volumétrico de 100mL, completado o volume com água desionizada e homogeneizando. A titulação foi realizada na capela, com uma bureta de 25mL contendo a solução de mel e em um erlenmeyer com 5mL de solução de Fehling A, 5mL de Fehling B e 40mL de água desionizada.

Após o início da ebulição foi iniciada a titulação, baseado em VARGAS (2006), foi liberando de uma só vez 5mL da solução de açúcares. Com o reinício da ebulição, a solução de Fehling torna-se avermelhada, mais ainda com muita presença de azul (íons  $\text{Cu}^{+2}$ ). A titulação foi reiniciada, desta vez gota por gota, sob agitação e sendo observada a modificação da cor. Foi considerado o fim da reação quando a solução, contra a luz fluorescente, não apresentou qualquer tonalidade ou reflexo azul, estando colorida por um vermelho tijolo intenso (Figura 11). A análise foi realizada em triplicata.



**Figura 11:** Titulação finalizada com a solução apresentando cor vermelha tijolo intensa.

As soluções de Fehling foram feitas conforme os autores BOGDANOV; MARTAN; LÜLLMANN (1997). A solução de Fehling A foi preparada dissolvendo 34,65g de sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  . PM = 249,71) em água desionizada para 1 litro de solução, em balão volumétrico.

A solução de Fehling B foi preparada dissolvendo 346g de tartarato duplo de sódio e potássio ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) em cerca de 300mL de água desionizada, acrescido de hidróxido de sódio (NaOH), o qual foi previamente dissolvido 100g em 200mL em água desionizada. As soluções de tartarato de sódio e potássio e hidróxido de sódio foram unidos em um balão volumétrico de um litro, homogeneizadas, e após completa reação (percebida pelo resfriamento e por cessarem as eliminações de bolhas) o balão foi aferido com água desionizada.

As soluções de Fehling A e B foram então armazenadas separadamente em frascos âmbar sob refrigeração por 48 horas, antes de serem padronizadas. Para padronização, utilizou-se uma solução de 0,5% (m/v) de glicose. A média dos valores obtida na padronização foi aplicada na fórmula para obtenção do fator de correção (F) das soluções de Fehling:

$$F = (\% \text{ da glicose}) \times (\text{média dos volumes gastos}) \times 0,01$$

- % de glicose = 0,5

io do reagente de Fehling = 0,01

O cálculo para porcentagem de açúcares redutores (AR) se dá através da fórmula:

$$\% \text{ AR} = \frac{(250 \times F \times 100)}{\text{Média dos valores gastos na titulação}}$$

- Fator de diluição da solução de mel = 250
- F = fator de Fehling

### F.1) Sacarose aparente

Devido a sacarose ser um dissacarídeo não redutor, composto por duas moléculas de açúcares (glicose e frutose) unidas em ligação glicosídica admiti-se que após a hidrólise é possível quantificar indiretamente a sacarose na solução analisada, através dos açúcares redutores formados pela hidrólise. A partir da solução mãe de mel preparada para análise de açúcares redutores, foram transferidos 2mL para um erlenmeyer, onde foram adicionados 40mL de água desionizada e 1mL de ácido clorídrico concentrado. Esta solução foi submetida ao aquecimento até a ebulição, resfriada, neutralizada com NaOH até pH 7 e completada com água desionizada até 100mL no balão volumétrico. Após a homogeneização, foi titulada com as soluções de Fehling conforme descrito. A média dos volumes gastos, e o resultado final foi expresso como porcentagem de açúcares totais (%AT).

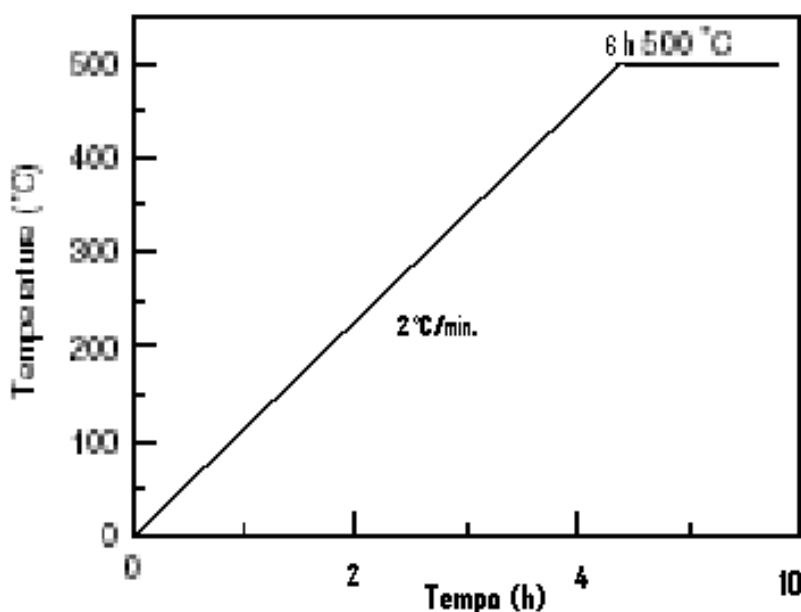
$$\% \text{ AT} = \frac{250 \times F \times 100}{\text{Média dos volumes gastos na titulação}}$$

Assim, a porcentagem de sacarose de uma amostra é calculada pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ sacarose} = (\% \text{ açúcares redutores totais} - \% \text{ açúcares redutores}) \times 0,95$$

### 3.3 Determinação do resíduo mineral fixo

O resíduo mineral fixo foi determinado com auxílio da mufla da marca Linn . Elektro Thern. cujo princípio é baseado na digestão do material orgânico (oxidação) pela elevada temperatura (HERNÁNDEZ *et al*, 2004). Pesou-se 5g de mel em um cadinho de porcelana e mantido em estufa até o material atingir o peso constante (80°C por 24h e 105°C por 48h). Após seco, o material foi calcinado na mufla em temperatura de 500°C durante 6h com uma taxa de subida de 2°C/min (Figura 12). Depois de o material ter sido calcinado, o cadinho foi mantido em um dessecador e o resíduo mineral fixo foi pesado.



**Figura 12:** Programação da temperatura na mufla.

Calculo do teor de cinzas:

$$\% \text{ cinzas} = \frac{(Pr+Pc) \times 100}{(Pc+Pa) - Pc}$$

Pc: peso do cadinho

Pa: peso da amostra

Pr: peso resíduo mineral fixo (cinzas)



## erais

Os minerais presentes na amostra foram determinados após a obtenção do resíduo mineral fixo. As cinzas resultantes foram solubilizadas em 3mL do ácido nítrico 0,1M e diluído a 25mL com água desionizada (adaptado de HERNÁNDEZ e colaboradores, 2004).

As determinações dos metais foram feitos com auxílio do equipamento de absorção atômica da marca CG Analítica, cuja determinação foi realizada através do índice do íon do metal pesquisado. Onde sua determinação foi feita diretamente na solução. Após a quantificação dos metais, foi feita à validação do método através do estudo de recuperação dos metais. Os metais determinados foram: Ca, Cu, Fe, Mg e Zn.

### 3.6 Determinação do Hidroximetilfurfural (HMF) através do método da Espectrofotometria.

A determinação do HMF foi efetuada pelo método nº 980.23 (AOAC, 1997) recomendado pela Instrução Normativa do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000). Soluções utilizadas para análise de hidroximetilfurfural:

- Solução de Carrez (I): Solubilizou-se 15g de  $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$  em 100mL de água desionizada.
- Solução Carrez (II): Solubilizou-se 30g  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  em 100mL de água desionizada.
- Solução de bissulfito de sódio à 0,2% (m/v): Solubilizou-se 0,20g de  $NaHSO_3$  em 100mL de  $H_2O$  (preparar no dia da análise).

#### **Determinação:**

Pesou-se 5g de mel em um béquer e transferiu-o para um balão de 50mL. Em seguida acrescentou-se 25mL de água; 0,5mL da solução de Carrez I e 0,5mL da

resultante foi homogeneizada e aferido para 50mL com água desionizada. Filtrou-se em um papel de filtro quantitativo, sendo desprezados os primeiros 10mL do filtrado.

Para determinação do HMF foram usados quatro tubos de ensaios: No primeiro tubo, foram adicionados 5mL as solução filtrada e 5mL da solução de bissulfito de sódio a 0,2%, sendo este tubo considerado como referência. Nos demais foram adicionados 5mL do filtrado e 5mL de água desionizada, esses são as soluções teste.

As soluções testes foram homogeneizadas e medidas em espectrofotômetro UV-visível GBC 911 nos comprimentos de ondas 284 e 336nm. Anterior a leitura que foi realizada, o aparelho foi calibrado com solução de referência correspondente.

$$\text{Hidroximetilfurfural (HMF) mg /100g mel} = (A_{284} - A_{336}) \times 14,97 \times 5 / \text{g da amostra}$$

### 3.7 Determinação da atividade diastásica do mel de abelha

A atividade diastásica, é um conjunto de amilases, cujo está presente no mel de abelha, foi determinada pelo método adaptado por SANTOS, MALASPINA, PALMA (2003). O método é uma modificação do procedimento descrito por BOGDANOV; MARTIN; LÜLLMANN, (1997) e utiliza a leitura em espectrofotômetro, através da descoloração de uma solução de amido, iodo e mel em condições controladas. Quanto mais rápida a descoloração, maior a atividade diastásica da amostra, expressa em unidade da escala de Gothe ou Schade por grama de mel. A unidade Gothe é definida como a quantidade de enzima capaz de converter 0,01g de amido em uma hora a 40°C.

As soluções usadas para se executar o método são:

- a) Solução estoque de iodo: Em um balão volumétrico de 100mL dissolveu-se 2,2g de iodeto de potássio em seguida acrescentou a solução, 0,88g de iodo resublimado e completou-se o volume para 100mL com água desionizada.
- b) Solução de iodo . 0,02M: Diluiu-se 29,41mL da solução (a) com água desionizada até o volume de 50mL (Preparado no dia da análise);

c) Solução tampão de Acetato ( $\text{NaOAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ): pH 5,3 (1,59 M). Em um balão volumétrico de 500mL dissolveu-se 87g de  $\text{NaOAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  em 400mL de água, em seguida foi adicionado 10,5mL de ácido acético (HOAc), completado-se o volume de 500mL. No final o pH foi ajustado para 5,3 com HOAc e conservado sob refrigeração a 5°C.

d) Solução de cloreto de sódio (NaCl) . 0,1M

e) Solução de amido 1% (m/v):

I - Preparação de solução de amido:

Pesou-se 1g do amido e misturou-se com 70mL de água em um erlenmeyer de 250mL, a solução é aquecida até a ebulição, sob agitação constante, após o resfriamento, completou-se o volume para 100mL com água destilada.

- **Determinação da atividade diastásica na solução de amostra de mel:**

Em um béquer de 20mL foram pesados 5g de amostra, adicionado cerca de 20mL de água desionizada, corrigiu-se o pH dessa solução até 5,3 com NaOH e completado o volume para 50mL.

Em um tubo de ensaio foram adicionados 5mL da solução de mel, 500 $\mu\text{L}$  do tampão acetato, 500 $\mu\text{L}$  da solução de cloreto de sódio 0,1M, 150 $\mu\text{L}$  de solução de iodo 0,02M e 9,6mL de água desionizada. É essencial que a solução de mel esteja tamponada antes do contato com o cloreto de sódio, pois em pH abaixo de 4, a atividade diastásica é inibida (BOGDANOV; MARTIN; LÜLLMANN, 1997). Adicionou-se por fim 250 $\mu\text{L}$  da solução de amido 1% e disparou-se o cronômetro, agitando-se a solução até a completa homogeneização; mediu-se imediatamente a absorvância da solução a 660nm no espectrofotômetro UV-visível GBC 911, utilizando água como o branco. Enquanto procedeu-se a leitura, o tubo com a solução já deve estar aquecido no banho-maria a 40°C  $\pm$  1°C.

Foram realizadas leituras periódica de absorvância, conforme a Tabela 4 descrita por BOGDANOV (2002), retornando sempre o tubo ao banho-maria, até atingir um valor inferior a absorvância de 0,235. Atingindo esse valor, a contagem do tempo no cronômetro é interrompida imediatamente, sendo o tempo transcorrido registrado e calculado na fórmula a atividade diastásica.

**Tabela 4:** Valores de absorvância e intervalos de tempo para leitura, conforme BOGDANOV (2002).

Absorvância Inicial	Intervalo de tempo para leituras
$A > 0,658$	>10min.
$0,658 > A > 0,523$	5 a 10min.
$0,523 > A > 0,456$	2 a 5min.

- **Quantificação da atividade diastásica na solução de amostra de mel:**

A quantificação da atividade diastásica foi realizada através de cálculo. O qual foi encontrado o tempo em que se alcançou a absorvância inferior a 0,235 e este tempo alcançado foi dividido por 300 para obter a atividade diastase (DN).

A atividade de diastase foi calculada como número de diastase (DN):

$$DN = \frac{300}{t_x}$$

$t_x$  = tempo de reação em minutos

### 3.8 Determinação da umidade presente no mel de abelha sem ferrão:

Para a determinação da umidade foi utilizada metodologia de SANTOS e colaboradores (2004), cujo o princípio é a imiscibilidade de solventes, nesse caso, o tolueno e a água.

Pesou-se 10g de mel em um balão de fundo redondo de 250mL de volume. Em seguida o balão foi adaptado ao aparelho Dean Stark (DS) e a uma manta aquecedora. Sobre o topo deste sistema (DS + balão de fundo redondo + manta aquecedora) foram introduzidos 100mL de tolueno. Sobre o DS foi acoplado o condensador (Figura 13), após a montagem do sistema foi feita a conexão da refrigeração e a extração foi realizada por um período de 1 hora e trinta minutos.

O cálculo do teor de umidade (U%) através do método DS, foi realizada com o emprego da equação abaixo:

$$U \% = \frac{[(V_a \cdot F1) \cdot FA \cdot 100]}{M}$$

Onde:

$V_a$  = volume de água extraído, em mL, lido na escala volumétrica do aparelho

DS;

$M$  = massa da amostra em gramas;

F1 (primeiro fator de correção da fórmula de umidade) = 0,65;

FA (segundo fator de correção da água) = 0,9833.



**Figura 13:** Determinação da umidade no aparelho Dean Stark (DS)

### ***Determinação do fator de correção do equipamento Dean Stark***

- FA = Fator de correção da água:

Foram colocados no equipamento Dean Stark, 3mL de água e 100mL de tolueno e montado o sistema de destilação da umidade por um período de 1 hora e trinta minutos conforme mencionado anteriormente. O experimento foi realizado em triplicata.

glicose:

Também em triplicata a glicose foi liofilizada até a completa secagem e mantida no dessecador. Para determinação do fator de correção da glicose, colocou-se no equipamento Dean Satark 10g de glicose e 100mL de tolueno, a destilação foi realizada por um período de 1 hora e trinta minutos.

- FGA = Fator de correção da amostra (glicose + água):

Colocou-se no equipamento 10g de glicose completamente seca, 3mL de água e 100mL de tolueno para determinar o fator de correção, por um período de 1 hora e trinta minutos.

$$FA = \frac{\text{vol. médio de H}_2\text{O destilada lida na escala de leitura}}{\text{Quantidade de água (3,0mL)}}$$

$$F1 = \frac{\text{vol. médio de H}_2\text{O destilada do FG} + (\text{vol. médio de H}_2\text{O destilada do FGA})}{2}$$

Vol. = volume

### 3.9 Identificação da cor no mel de abelha por diagrama de cores:

A cor foi representada através do diagrama de cores Figura 14 e 15. As cores são distribuídas em seqüência em uma circunferência na ordem da freqüência espectral, na qual são representadas pelos espaços  $\%a$ ,  $\%b$  e  $\%c$ , onde o  $\%a$  indica leveza e o  $\%b$  e o  $\%c$  são as coordenadas cromáticas. As Figuras 14 e 15 demonstram o diagrama, tendo o  $\%a$  e o  $\%b$  indicando direções de cores. O  $\%a$  indica a direção para o vermelho e o  $\%b$  indica a direção para o verde. Em relação ao  $\%c$ , indica a direção para o amarelo, e  $\%c$  indica a direção para o azul. Sendo que, os valores de  $\%a$  e  $\%b$  são representados no meio do centro acromático, tendo valores dos pontos com que se mudam do centro, no qual, a saturação da cor é

l, tem-se a visão do corte horizontal das cores  $a^*$  e  $b^*$ , com  $L^*$  constante (MINOLTA, 1994).

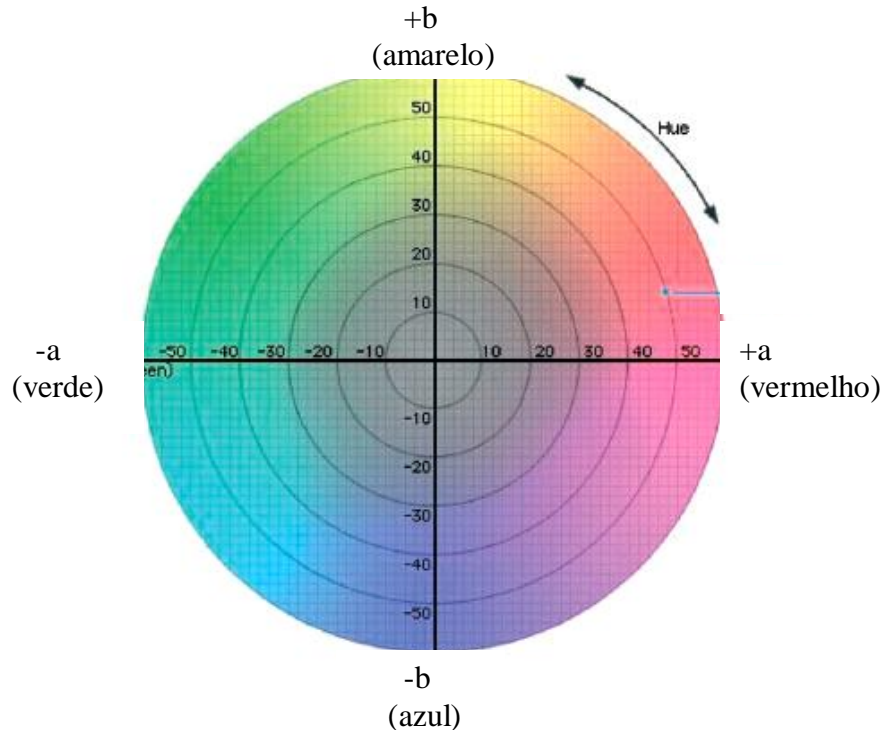


Figura 14: Diagrama de cores e direções dos espaços  $a^*$  e  $b^*$ , corte horizontal, vista superior. Fonte: MINOLTA (1994).

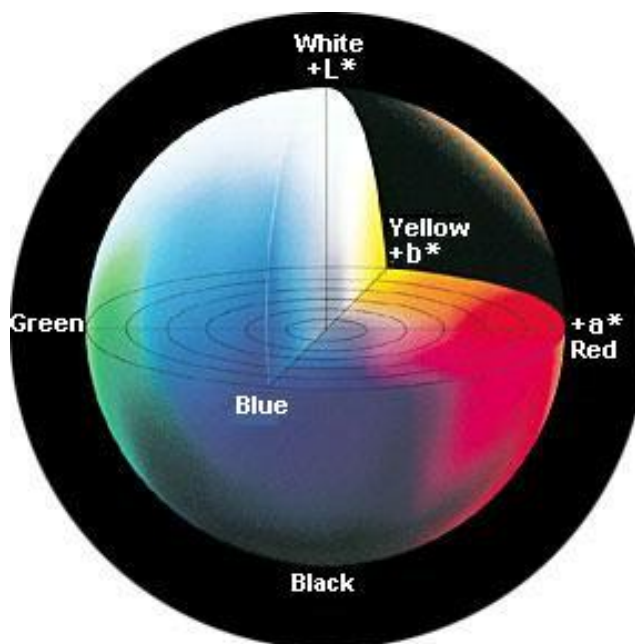
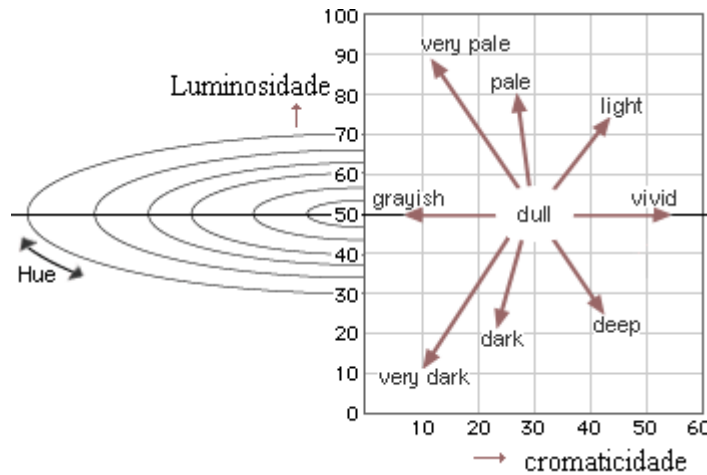


Figura 15: Corte no 1º quadrante, vista tridimensional da esfera. Fonte: MINOLTA (1994).

Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features

entada a cor em profundidade, obtém-se uma visão cromática contra leveza. A cor em profundidade é representando pelo espaço  $L^*a^*b^*$ , demonstrado na Figura 15 e 16, a qual vai do claro ao escuro.



**Figura 16:** Representação da cor em profundidade, representado pelo espaço L.

Fonte: MINOLTA (1994).

A cor do mel foi medida em colorímetro da marca CE Minolta, modelo C310. Para a leitura de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , 10mL das amostras foram colocadas dentro de uma cubeta de cílio transparente e incolor (sem refletância dos raios). A superfície de leitura da cor apresentou o máximo de uniformidade possível, isenta de bolhas. Cada amostra foi avaliada em triplicata, e em cada repetição foram obtidas três leituras, em locais diferentes da placa.

### 3.10 Identificação da cor no mel de abelha no espectrofotômetro

A determinação da cor no mel foi feita através do método descrito por BIACHI (1981), que considera a media de absorção da absorvância a 635nm de uma solução 50% (m/v) de mel em água. Após a diluição, a solução repousou por 10 a 15 minutos antes da leitura no espectrofotômetro UV\_visível GBC 911. Como branco foi usada água desionizada.

A cor é expressa em mm e calculada através da seguinte formula:

$$\text{Cor} = (371,39 \times \text{Abs}_{635}) \cdot 38,70$$



da pela escala de Pfund, Tabela 5:

**Tabela 5:** Classificação do mel conforme a coloração

<b>Cor do Mel</b>	<b>mm</b>	<b>Abs<sub>635</sub></b>
Branco-água	0-8	0,104-0,125
Extra-branco	8-16,5	0,125-0,148
Branco	16,5-34	0,148-0,195
Âmbar extra-claro	34-50	0,195-0,238
Âmbar-claro	50-85	0,238-0,333
Âmbar	85-114	0,333-0,411
Âmbar-escuro	114 ou mais	0,411 ou mais

### 3.11 Análise do potencial hidrogeniônico do mel de abelha sem ferrão

Para a determinação do pH no mel foi utilizada a recomendação de BOGDANOV, MARTIN e LÜLLMANN (1997).

Pesou-se 2,00g de mel em um béquer, e foi diluído com 15mL de água desionizada. O pH foi determinado com auxílio de um potenciômetro digital da marca QUIMIS, previamente calibrado.

### 3.12 Análise da acidez livre presente no mel de abelha sem ferrão

A determinação da acidez do mel foi realizada segundo a técnica descrita pelo método nº 962.19 da AOAC (1997), que se baseia na titulação da amostra, com solução de NaOH 0,05N, até atingir o pH 8,5, cujo método é recomendado pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (BRASIL, 2000).

Pesou-se 2g da amostra em um béquer e transferiu-se para um erlenmayer de 250mL com auxílio de 15mL de água desionizada. Como indicador foi usado 2 gotas de fenolftalena a 1%. A solução foi titulada com solução de hidróxido de sódio 0,05N até o aparecimento da coloração levemente rósea persistente.

Para o cálculo da acidez foi utilizada a fórmula a baixos:

$$\text{Acidez} = \frac{V \times f_c \times M \times 1000}{A}; \quad \text{expressa em mEq/Kg}$$

V = volume gasto de solução de NaOH 0,05N (mL)

$f_c$  = fator de correção da solução de NaOH (adimensional)

A = massa da amostra (g)

M = molaridade da solução de NaOH (mol/L)

### 3.13 Determinação de proteína total pelo método do Kjeldahl

O teor de proteína foi determinado em triplicata, o qual foi realizado pelo método Micro Kjeldahl para nitrogênio total, utilizando-se o fator de 6,25 para conversão de acordo com a AOAC (1995).

Na digestão ou mineralização, pesou-se 1g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ; 0,1g de  $\text{CuSO}_4$ ; 0,01g de  $\text{SeO}_2$  e 1g da amostra em papel de filtro e transferiu-se para o tubo de digestão, e neste, foi adicionado em torno de 15 a 20mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Com o bloco digestor aquecido em torno de 300°C, foram acoplados os tubos no sistema de exaustão de gases, onde posteriormente foi elevada a temperatura para 400°C. Quando o líquido apresentou-se límpido, foi deixado por mais 30min. Após a digestão completa foi deixado esfriar e acrescentado 50mL de água destilada.

#### **Destilação:**

Para a destilação o tubo no aparelho foi acoplado e acrescentado o excesso de NaOH a 40% (20 a 30mL).

Calculo:

$$\text{Proteínas totais em g/100g} = \frac{(VA \cdot VB) \times Fa \times F \times 0,14}{P}$$

VA = volume de ácido clorídrico 0,1N padronizado gasto na titulação da amostra;

),1N padronizado gasto na titulação do branco;

Fa = fator de correção da solução de ácido clorídrico 0,1N;

F = fator de conversão nitrogênio-proteína (6,25) de acordo com a AOAC (1995).

### 3.14 Determinação de Fenóis Totais em mel de abelha sem ferrão pelo método de Folin Denis

O método de Folin Denis é um método colorimétrico para quantificar taninos e fenóis em geral. Como desvantagem não é um método específico, não faz distinção entre compostos fenólicos e tânicos e outros materiais redutores ou antioxidantes (MONTEIRO *et al*, 2005). Este método foi testado por OTTO FOLIN e DENIS em 1912, em análises de fenóis e derivados. Testes anteriores foram realizados onde os autores identificaram que o reagente sozinho, não tinha uma coloração capaz de ser realizada uma análise qualitativa e principalmente quantitativa. Para isso, foi utilizado um álcali de preferência carbonato de sódio que ao ser adicionado da uma coloração azul. Segundo os autores (Folin-Denis), não pode ser utilizados carbonato de potássio ou amônia, pois eles precipitam os outros reagentes.

O princípio do método está na redução de fenol e taninos em meio ácido, quando se adiciona um álcali em excesso resulta em sais de coloração azul. (FOLIN-DENIS, 1912) A vantagem do método de Folin-Denis está na sensibilidade que possui, apresentando uma faixa de detecção de 0,0001mg/mL a 0,0008mg/mL em um comprimento de onda de 748nm, seguindo a lei de Lambert-Beer. Ultrapassando estes valores, extrapolarão os limites de sensibilidades do método. A curva de quantificação utilizada para o cálculo de fenólicos totais, foi construída a partir dos resultados obtidos das concentrações citadas anteriormente utilizando como padrão solução de ácido tânico (0,1mg/mL).

O teor de fenólicos totais no mel foi obtido pela solubilização de 0,5g de mel com 25mL de água destilada. Dessa diluição, retirou-se uma alíquota de 500 $\mu$ L e transferiu-se para um balão de 50mL, adicionando 1,5mL de reagente de Folin-Denis e 3mL de solução de carbonato de sódio, aferindo-se com água. Esta solução foi deixada em repouso por 30 minutos e após este tempo foram realizadas as leituras em espectrofotômetro UV\_visível GBC 911 a 748nm , tendo sido realizadas três repetições da amostra, utilizando um branco a cada leitura (AOAC, 1995).

## **3.2 Extração de bromelina**

A bromelina é uma enzima proteolítica encontrada em todas as partes do abacaxizeiro e também em todas as espécies da família *Bromeliaceae*. Devido a comunidade da Flecheira em Tracuateua apresentar problema de armazenagem, obtendo mel de abelha escurecido com o tempo, o acréscimo de bromelina irá estabilizar o envelhecimento do mel durante o armazenamento. A extração da bromelina foi feita de acordo com KUNITZ, (1947).

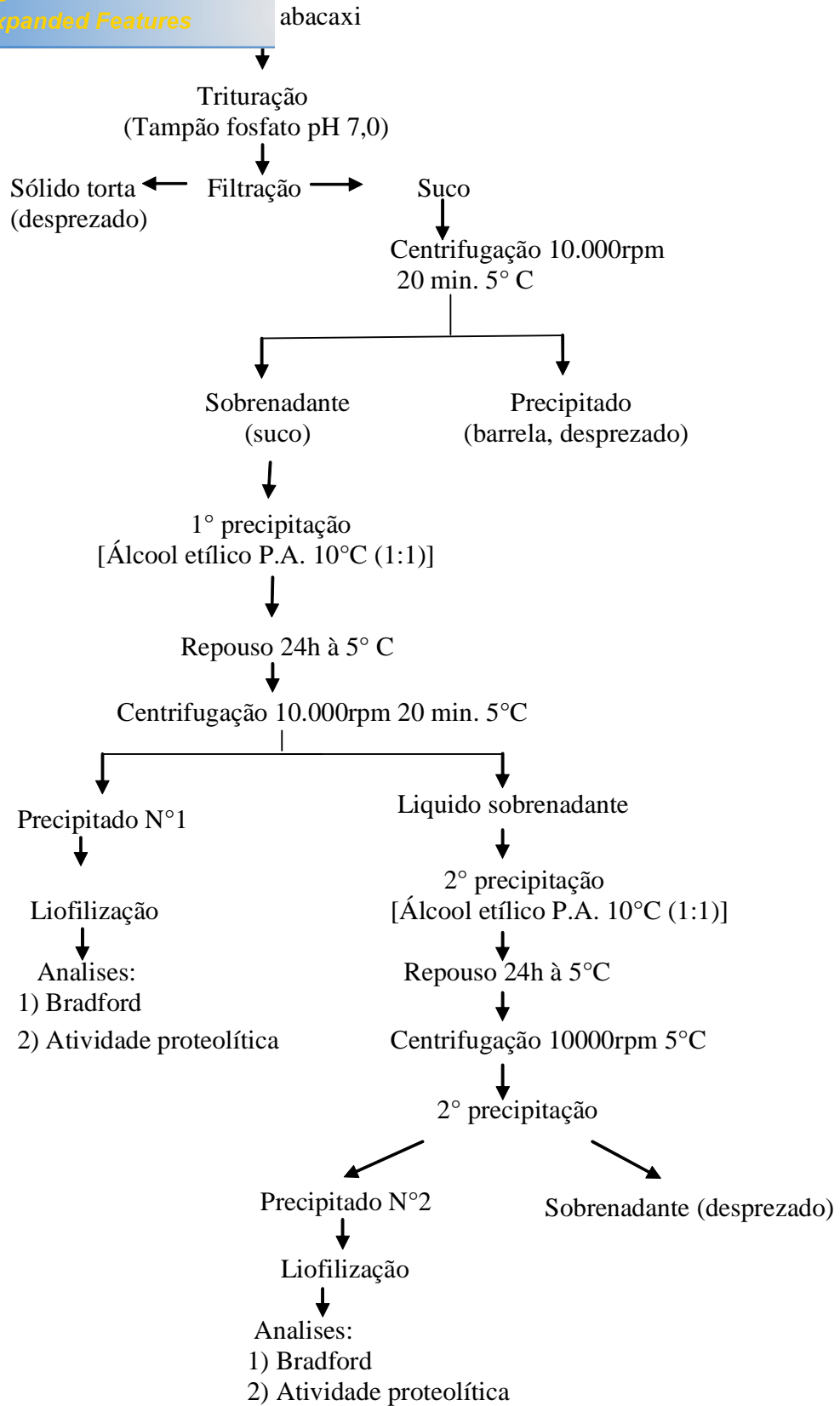
### **3.2.1 Processo de obtenção de bromelina**

Foram utilizados 3 frutos de abacaxi da variedade pérola adquiridos na feira de Belém do Pará. Os frutos foram lavados com água clorada contendo 5ppm de cloro residual livre. Após a drenagem da água foi feita à medida se suas massas e triturados. Foram utilizadas soluções tampão fosfato pH 7,0 (1:1) para facilitar a extração do suco na fase de desintegração dos resíduos (Figura 17).

### **3.2.2 Ensaio de precipitação**

Foram realizados ensaios de precipitação conforme o fluxograma, Figura 17, no qual, o suco tamponado, filtrado e retirado a barrela por centrifugação, foi resfriado em um banho de gelo, sob agitação em um agitador magnético, até o mínimo de 5°C. A seguir, foi adicionado um volume de etanol frio (5°C), durante a adição do etanol a temperatura não poderia ultrapassar 10°C, para evitar a desnaturação, por isso a amostra foi mantida em geladeira a 5°C/24h.

Após a precipitação, o suco foi centrifugado sob refrigeração. O material precipitado foi liofilizado para posterior análise de atividade proteolítica. A conservação da enzima foi realizada através do processo de liofilização.



**Figura 17:** Fluxograma para obtenção de bromelina.

### **s da bromelina:**

As proteínas foram determinadas pelo método de BRADFORD (1976). Foi utilizado 4,9mL de reagente de Bradford e 0,1mL da amostra, agitada vigorosamente em um vortex e incubada por 5 minutos, após a incubação realizou-se a leitura a 590 nm.

#### **3.2.4 Determinação da atividade proteolítica da bromelina**

A atividade proteolítica foi determinada através do método da digestão da caseína proposto por KUNITZ (1947); MURACHI (1970); BALDINI e colaboradores (1993). A caseína sofreu hidrólise por 15 minutos, após esse período, a reação foi paralisada pela adição do ácido tricloroacético (TCA). A proteína não hidrolisada coagulada foi retirada através de filtração e centrifugação.

Pesou-se 0,5 mg de bromeliona e incubou-se com 0,75mL de solução de caseína a 1% (p/v) em tampão Tris-HCl 0,01M, pH 8,6; por 15 minutos a 37°C. A reação foi interrompida pela adição de 1,5 mL de TCA (30%) e mantida por 30 minutos a temperatura ambiente e posteriormente submetida à centrifugação (1500 x g/5min.). A atividade proteolítica foi estimada pela leitura da Absorvância a 280nm do sobrenadante. Uma unidade de atividade caseinolítica foi definida com a quantidade de enzima que produz um aumento na absorvância de 0,001 unidades/minutos. No branco, a adição de solução de TCA foi feita antes da adição da enzima. Uma unidade de atividade enzimática (U) corresponde a quantidade de enzima capaz de variar em uma unidade a leitura de absorvância a 280nm, durante 15 min a 37°C.

#### **Atividade proteolítica**

$$\text{Atividade absoluta (U)} = \frac{\text{ABS}}{0,001 \times \text{min.}}$$

$$\text{Atividade Específica (EU)} = \frac{\text{ABS}}{0,001 \times \text{mp} \times \text{min.}}$$

mp: massa da amostra proteolítica

## o mel de abelha em condições aceleradas

Para estudar a estabilidade do mel de abelha sem ferrão, os potes contendo 100mL de mel foram acondicionados em condições acelerada em câmeras de BDO. O qual a estabilidade foi testada em função dos tratamentos versos tempo de armazenamento, com o intuito de induzir o envelhecimento em quatro semanas.

Os tratamentos são representados por T, onde:

- T1: Mel de abelha armazenado na geladeira a 5°C;
- T2: Sem tratamento armazenado na câmara BDO a 45°C (branco);
- T3: Mel de abelha acrescentado 150mg de bromelina, armazenado na câmara BDO a 45°C;
- T4: Mel de abelha acrescentado 70mg de bromelina, armazenado na câmara BDO a 45°C;
- T5: Mel de abelha acrescentado 20mg de bromelina, armazenado na câmara BDO a 45°C;
- T6: Mel de abelha acrescentado 5mg de bromelina, armazenado na câmara BDO a 45°C;
- T7: Mel de abelha pasteurizado a 65°C, armazenado na câmara BDO a 45°C.

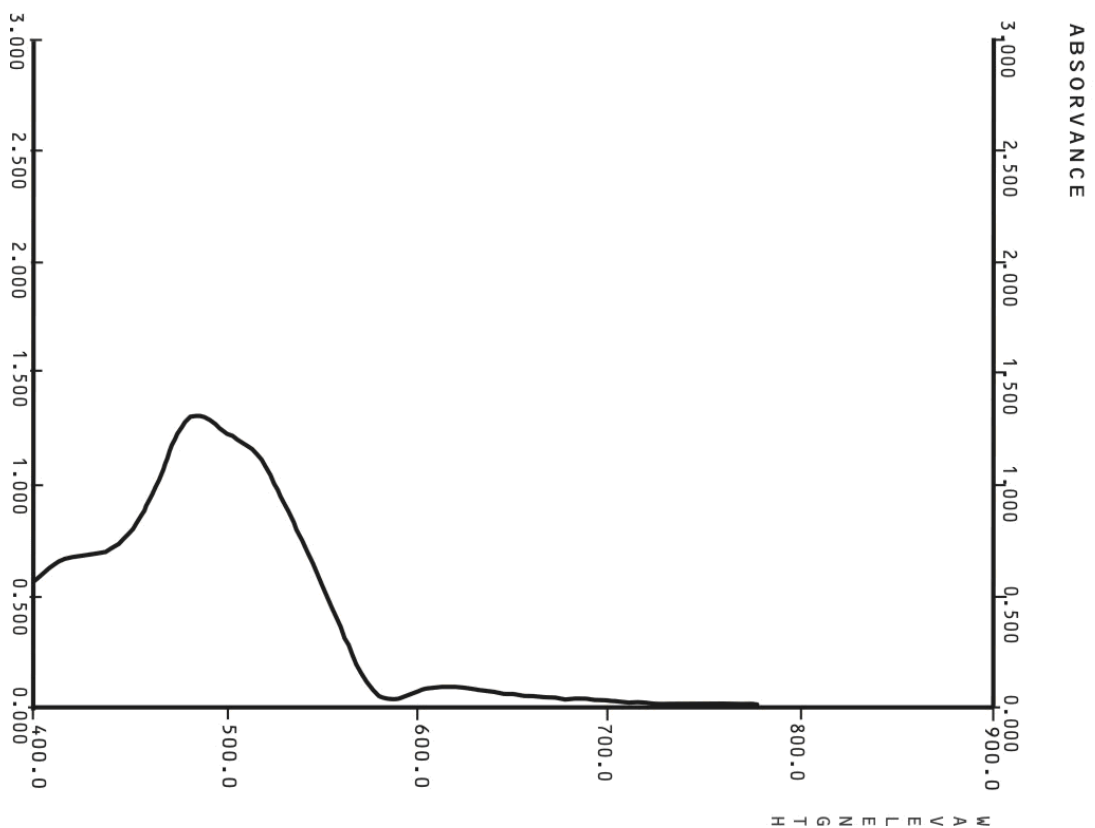
### Variáveis de respostas:

- Cor;
- PH;
- Acidez;
- Hidoximetilfurfural;

Os resultados foram avaliados em triplicatas mediante análise de variância, quando ocorreu efeito significativo as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Statistical Analyses System - SAS.

#### 4.1 Reação de açúcares ao reagente Selliwanoff

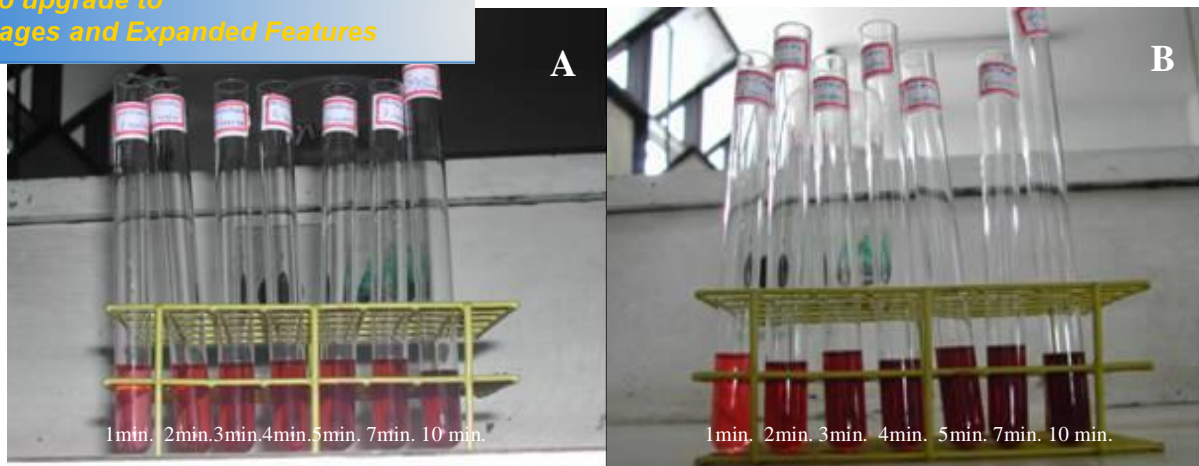
A análise de varredura no espectrofotômetro UV-Visível, permitiu analisar as reações com cetoses, encontrando-se um max de 486nm como comprimento de onda máximo, o qual foi utilizado para as análises quantitativas e qualitativas de frutose com o reagente de Selliwanoff, Figura 18.



**Figura 18:** Varredura do comprimento de onda, no espectrofotômetro, para o reagente de Sellivanoff na determinação de frutose.

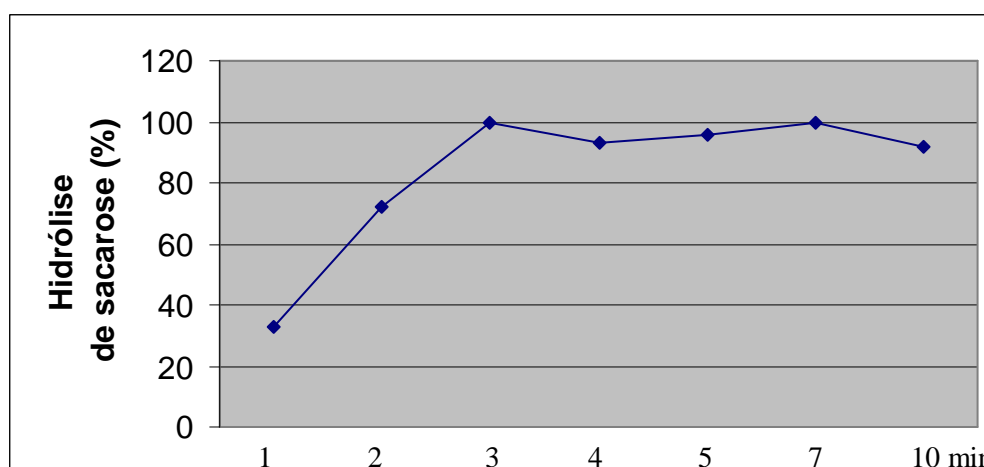
A reação dos açúcares frutose e sacarose apresentaram-se positiva ao reagente de Selliwanoff, sendo que a frutose pela sua estrutura apresentou reação mais rápida do que a sacarose. Na Figura 19 é possível compará-las com a coloração mais intensa na solução padrão de frutose. O estudo foi realizado em intervalos de tempo de 1 a 10 minutos.





**Figura 19:** Padrões de sacarose (Figura 19 A) e frutose (Figura 19 B) com o reagente de Selliwanoff, durante o tempo de 1 a 10 minutos a 100°C.

A avaliação do tempo mínimo necessário para a hidrólise de 100% da sacarose foi realizada mediante cinética, na qual se observou o tempo ótimo de 3 minutos, Figura 20.



**Figura 20:** Estudo do comportamento da hidrólise da sacarose: monitoramento da formação de frutose no meio reativo com Selliwanoff.

Outro fator relevante foi que o reagente de Selliwanoff não reagiu com a glicose durante o tempo de 1 a 10 minutos. Neste tempo o padrão de glicose comportou-se igual ao branco, pela não mudança da coloração, isto se deve a estrutura das aldoses, este fato é devido as cetoses originarem derivados de furfural mais rapidamente que as aldoses, no qual na presença da resorsina forma um complexo vermelho, confirmando que o reagente de Selliwanoff é indicado para

interferência de aldoses, a comprovação de que a glicose não reage com o reagente de Selliwanoff está representada na Figura 21.

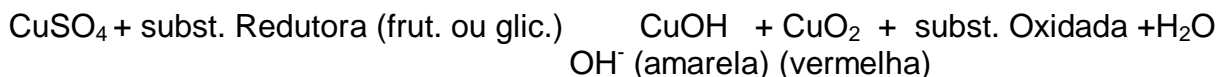


**Figura 21:** Tubo 1, glicose; tubo 2, branco; tubo 3, sacarose e tubo 4, frutose, durante o tempo de 5 min.a 100°C, da esquerda para à direita, com o reagente de Selliwanoff.

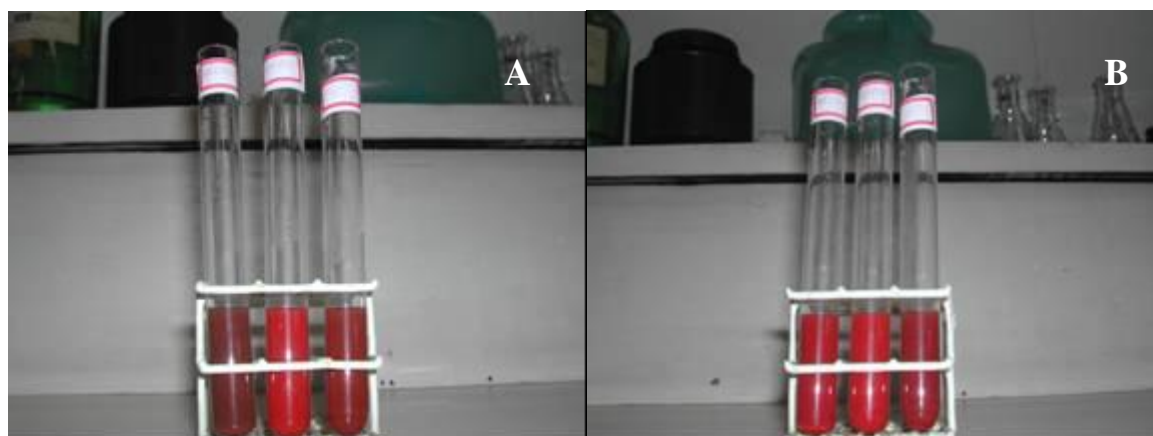
#### 4.2 Reação de açúcares ao reagente Benedict

O reagente de Benedict apresentou um excelente indicador de açúcares redutores, porém não indicado como diferenciador dos padrões de glicose e frutose. Quando se compara o reagente de Benedict com o reagente de Selliwanoff, a melhor resposta foi alcançada com o reagente de Selliwanoff, pois as aldoses não sofrem reação e comportam-se igual ao branco (Figura 21), em quanto que com o reagente de Benedict, a glicose e a frutose, com o decorrer do tempo tornaram-se com a mesma coloração (vermelho) (Figura 22), devido os hidratos de carbono reduzirem os cátions cobre, originando precipitados de óxido de cobre, com uma coloração que vai do verde ao vermelho, por tanto a glicose ou a frutose que são substâncias redutoras, reduzem o íon cúprico a íon cuproso em meio alcalino, á temperatura de aproximadamente 100°C. Demonstrado pelo seguinte esquema:

calor



Na Figura 22, é possível observar que inicialmente a reação da glicose apresentou-se mais lenta devido sua estrutura, porém com o decorrer do tempo tornaram-se significativamente iguais na cor, este método indicou que é um bom método qualitativo de determinar açúcares redutores, porém não é indicado para diferenciar qualitativamente a frutose da glicose, pois ambos no final da reação ficam de coloração vermelha.



**Figura 22:** Comparação dos açúcares, glicose, frutose e mel de abelha com reagente de Benedict, na Figura 22A, a 5 minutos de banho-maria e na Figura 22B a 10 minutos de banho-maria, da esquerda à direita.

#### 4.3 Método químico de dosagem de cetoses (frutose) em méis de abelha.

As análises qualitativas para identificação de frutose ou glicose em méis de abelha, comprovaram que o reagente de Benedict não é apropriado por não distinguir estes açúcares redutores (aldose e cetoses) (Figura 22), em quanto que o reagente de Selliwanoff apresentou excelente resultado, sendo seletivo para a frutose (cetose) (Figura 21). A utilização deste método possibilitou a determinação da concentração de frutose no mel de abelha, o qual se obteve valor de 44,57% (m/m). Ressalta-se que este método químico de determinação de frutose em méis

de de fazer o controle de qualidade de méis no Estado do Pará junto com as comunidades produtoras.

#### **4.4 Determinação dos açúcares redutores pelos métodos: Titulométrico (método de Fehling) e açúcares redutores pelo método do Ácido Dinitrossalicílico (ADNS).**

Segundo SILVA e colaboradores (2003), as metodologias de quantificação de açúcares pelos métodos de Fehling e ADNS não se diferenciaram estatisticamente e indicou a metodologia ADNS para quantificação de açúcares em mel de abelha.

A Instrução normativa 11/MAA, de 20 de outubro de 2000, estabelece que a concentração mínima de açúcares redutores presente em méis de abelhas *A. mellifera*, deverá apresentar um valor de 65% (m/m).

Os resultados obtidos através da metodologia ADNS apresentaram um valor médio de 73,10%, o qual se apresenta dentro da faixa estabelecida pela norma vigente do País (BRASIL, 2000), comprova-se que o método utilizado para a dosagem de açúcares redutores apresenta precisão confiável. O resultado está condizente com os obtidos por SOUZA e colaboradores (2004 a) 66 a 76,2%, SILVA (2006) 76,47% e ALVES (2004) 74,8%.

Os açúcares redutores pelo método titulométrico (Fehling) apresentaram valores menores em comparação ao ADNS, na Tabela 6 se observa os valores obtidos por este trabalho.

A metodologia que se baseia na espectrofotometria (ADNS), se comportou melhor na determinação dos açúcares, devido a titulometria apresentar menor precisão que a espectrofotometria, pois depende muito do manipulador, apresentando maior margem de erro, não havendo uma precisão no momento da virada (é indicado no momento que a solução passa da cor azul a vermelho tijolo), segundo CECCHI (1999) *apud* VARGAS (2006) a solução deve ficar constantemente em ebulição durante a titulação, porque o  $\text{Cu}_2\text{O}$  formado pode ser novamente oxidado pelo  $\text{O}_2$  do ar, voltando a apresentar a cor azul, isso pode induzir ao erro. A titulação deve levar no máximo 3 minutos, porque pode haver decomposição dos açúcares com o aquecimento prolongado (CECCHI, 1999).

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

de açúcares redutores, % Açúcares redutores totais e % Sacarose, pela análise titulométrico (Fehling) e ADNS.

<b>Açúcares</b>	<b>Análise Titulométrico ± Desv.</b>	<b>Análise ADNS ± Desv.</b>
% Açúcar redutores	68,88 ± 1,22	73,10 ± 0,78
% Açúcares totais	74,39 ± 1,09	80,34 ± 0,73
% Sacarose *	5,23 ± 0,72	6,87 ± 0,35

\*Equação matemática: % sacarose = (% açúcares totais - % açúcares redutores) x 0,95

Características físico-químico do mel de abelha sem ferrão

Tabela 7: Parâmetros físico-químico da amostra de mel de meliponíneos recém colhidos da área de produção

Variáveis de Respostas	* Média de valores experimental	FONTES									
		Sousa e Bazlen, 1998( <i>M.compresipes</i> )	Souza et al, 2004a ( <i>M. asilva</i> )	Silva, 2006 ( <i>M. fasciculata</i> )	Vit e Pulcini, 1996 ( <i>M. paraense</i> )	Souza et al, 2004b ( <i>M. seminigra</i> )	Alves, 2004 ( <i>M. mandacaiá</i> )	Silva et al, 2002 ( <i>M. scutellaris</i> )	Almeida, 2002 ( <i>M. paraense</i> )	Denadai et al, 2002( <i>Tetragonica angustula</i> )	Brasil 2000
<b>pH</b>	4,40 ±0,01	4,06	3,27	3,60	-	3,53	3,27	4,66	4,52	3,8	3,3-4,6
<b>Acidez (meq/Kg)</b>	15,84±0,04	46,50	21-80	76	-	-	43,48	28,3	16,50	12,8	<50
<b>Cinzas %</b>	0,23 ±0,02	-	-	0,15	-	0,15	-	0,17	0,54	0,45	<0,6
<b>Proteína %</b>	0,17 ±0,01	-	-	-	-	0,35	-	-	-	0,9	-
<b>Umidade %</b>	25,0 ± 0,29	25	27-32	28	-	26	28,78	25,3	34	23,7	<20
<b>Açúcar Redutores %</b>	73,10 ± 0,78	-	66-76,2	76,47	-	-	74,8	-	-	-	>65
<b>Frutose %</b>	44,57±0,64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Glicose livre%</b>	28,53 ±0,61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sacarose aparente</b>	6,87 ±0,35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Atividade diastásica</b>	7,5 ±0,70	-	-	-	2,6-3,0	-	-	-	-	-	>8
<b>Hidroximetil furfural (mg.Kg-1)</b>	0,0 ±0,0	30,50	7,93	0,0	-	-	5,79	-	3,9	-	<60
<b>Cor</b>	Âmbar claro	-	-	Âmbar claro	-	Branco água - âmbar claro	-	-	Âmbar claro	-	Incolor - Pardo escuro

\* Estimativa média dos valores experimentais no mel de abelha sem ferrão da comunidade da Flecheira

O pH médio determinado em méis de *Melipona fasciculata* foi de 4,4 compatíveis por autores que encontraram valores de: 4,06 (SOUSA e BAZLEN, 1998); 3,27 (SOUZA *et al.*, 2004 a); 3,53 (SOUZA *et al.*, 2004 b); 3,27 (ALVES, 2004); 4,66 (SILVA *et al.*, 2002); 4,52 (ALMEIDA, 2002) e 3,8 (DENADAI *et al.*, 2002). Os valores de pH da amostras estão dentro dos limites estabelecidos pela norma vigente que é de 3,3 a 4,6 (Tabela 7).

#### 4.5.2 Acidez

O valor médio encontrado na amostra está em conformidade com o valor vigente da legislação que é de no máximo 50meq kg<sup>-1</sup>. Apresentando índice de acidez 15,84 meq kg<sup>-1</sup> (Tabela 7), méis que apresentam valores acima de 50meq kg<sup>-1</sup> apresentam um índice de acidez muito elevado, são méis que apresentam início de fermentação.

#### 4.5.3 Resíduo Mineral Fixo - RMF

Através do resíduo mineral fixo é possível determinar algumas irregularidades no mel, como por exemplo, a falta de higiene e a não decantação e/ou filtração no final do processo de retirada do mel pelo apicultor. O máximo teor de resíduo mineral fixo no mel permitido pela legislação é de 0,6%. A amostra analisada encontra-se dentro dos padrões exigidos, pois apresentaram valor médio de 0,23%, compatível com autores que fizeram trabalho com abelhas indígenas, tais como SOUZA e colaboradores (2004 b), 0,15%; SILVA e colaboradore, (2002), 0,17%; ALMEIDA (2002), 0,54%; SILVA (2006), 0,15% e; DENADAI e colaboradores (2002), 0,45%; (Tabela 7).

Em relação as concentrações de minerais encontrada no mel de abelha sem ferrão, o Ca apresentou concentração de 43,10 µg/mL, o Cu 0,77µg/mL, o Fe 1,64µg/mL, o Mg 18,11µg/mL e o Zn 0,85µg/mL. Todos os minerais pesquisados apresentaram resultados de concentração semelhante ao encontrados por Lopez e

ez e colaboradores (2004) (Tabela 8), que fizeram trabalho com mel de abelha de *A. mellifera*, indicando que a concentração de minerais são semelhante entre as espécies *A. mellifera* e a abelha sem ferrão em estudo (*M. fasciculata*).

**Tabela 8:** Minerais determinados em mel de abelha (*Melipona fasciculata*).

Minerais	Média ( $\mu\text{g/mL}$ )* $\pm$ Desv.	FONTES	
		Lopez et al, 1999	Hernández et al, 2004
<b>Ca</b>	43,10 $\pm$ 0,44	47	57,3
<b>Cu</b>	0,77 $\pm$ 0,05	-	0,44
<b>Fe</b>	1,64 $\pm$ 0,17	-	1,52 - 1,90
<b>Mg</b>	18,11 $\pm$ 0,44	16	28,4
<b>Zn</b>	0,85 $\pm$ 0,02	1,2	1,18

\* Estimativa média dos valores experimentais do mel de abelha sem ferrão da comunidade da Flecheira.

#### 4.5.4 Proteína

O teor de proteínas encontrado por este trabalho em méis de abelhas sem ferrão (*M. fasciculata*) foi de 0,17% (Tabela 7). O Valor médio obtido apresenta-se próximo dos padrões internacionais que é de 0,26%. Autores que também trabalharam com abelha sem ferrão obtiveram resultados semelhantes a este trabalho, como os autores SOUZA e colaboradores (2004 b), 0,35%, indicando que méis de abelhas apresentam teores baixos de proteínas, porém de alto valor biológico.

#### 4.5.5 Umidade

A umidade é uma das características mais importante no controle de qualidade, por influenciar na viscosidade, peso específico, maturidade (méis colhido verde, isto é, sem ter sido operculado, ou pelo menos com 80% dos favos ou potes operculados), cristalização e sabor. A umidade é um indicador importante da tendência à fermentação. A legislação brasileira considera parâmetro de qualidade



%). A umidade média determinada nas amostras de méis de *M. fasciculata* foi de 25%, encontrando-se fora dos limites estabelecidos pela legislação brasileira para méis de abelhas de *A. mellifera*. Porém a umidade apresenta-se dentro do encontrado por trabalhos relacionados de abelhas sem ferrão, como SOUSA e BAZLEN (1998), encontraram valor de 25%; ALVES (2004), 28,8%. Outros autores também encontraram valores de 34% (ALMEIDA, 2002); 27 a 32% (SOUZA *et al.*, 2004 a); 26% (SOUZA *et al.*, 2004 b); 25,3% (SILVA *et al.*, 2002); 23,7% (DENADAI *et al.*, 2002) (Tabela 7). LAURINO e GELLI (1991) desenvolveram trabalhos com diferentes amostras de méis de meliponíneos, concluíram que a umidade apresentou valores de 18 a 36%.

#### **Obtenção do fator de umidade do equipamento Dean Stark.**

O equipamento Dean Stark foi usado para determinar a umidade no mel de abelha, cuja correção do método foi feito através do fator de correção, Tabela 9.

**Tabela 9:** Quantidades acrescidas de água e glicose no equipamento Dean Stark para se determinar os fatores de correção.

Amostras	Quantidade de água (mL)	Quantidade de glicose (g)	Água destilada ±Desv.	Vol. médio de água destilação
FA (Água)	3,0	-	2,95 ± 0,07	2,95
Glicose (FG)	-	10	0,8 ± 0,0	0,8
Glicose + água (FGA)	3,0	10	3,5 ± 0,0	0,5

$$FA = \frac{\text{vol. médio de H}_2\text{O destilada lida na escala de leitura}}{\text{Quantidade de água (mL)}}$$

$$\text{Quantidade de água (mL)}$$

$$FA = \frac{2,95}{3,0} = 0,9833$$

$$3,0$$

$$F1 = \frac{\text{vol. médio de H}_2\text{O destilada do FG} + (\text{vol. médio de H}_2\text{O destilada do FGA})}{2}$$

$$2$$

$$F1 = \frac{0,8+0,5}{2} = 0,65$$

$$2$$

seguinte fórmula:

$$U \% = \frac{[(V_a \cdot F1) \cdot FA \cdot 100]}{M}$$

Onde:

$V_a$  = volume de água extraído, em mL, lido na escala volumétrica do aparelho

DS;

M = massa da amostra em gramas;

F1 (primeiro fator de correção da fórmula de umidade) = 0,65;

FA (segundo fator de correção da água) = 0,9833

#### 4.5.6 Hidroximetilfurfural em mel recém colhido.

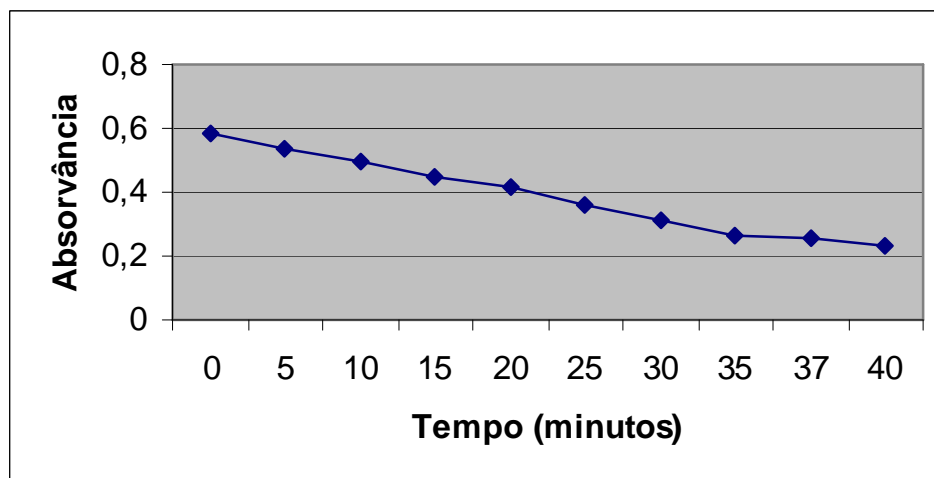
O hidroximetilfurfural, comumente chamado de HMF, sua presença é um indicador da qualidade do mel, sua presença elevada é um indicador de superaquecimento, como também indica a idade dos méis, podendo seu conteúdo aumentar com o tempo de armazenamento, adição de açúcar invertido, além de também ser afetado pela acidez, pH, água e minerais, como também poderá ter ocorrido a perda de algumas enzimas, talvez seja o constituinte secundário do mel mais discutido, devido a sua formação está relacionada com a reação com certos açúcares com ácidos e principalmente pela decomposição da frutose.

DAYRELLE e VITAL (1991) analisando amostras de méis brasileiros constataram valores variando de 1,10 a 248,20mg.Kg<sup>-1</sup>. Os autores mencionaram que os méis de países tropicais possuem alto teor de HMF, tornando-se fundamental a quantificação desse componente, para a verificação da qualidade do produto.

Devido as amostras não terem sofrido tratamento térmico (pasteurização) não houve formação de hidroximetilfurfural, sendo encontrado valor nulo, indicando boa qualidade e armazenamento, pois a legislação Brasileira considera parâmetro de qualidade valores inferiores a 60mg.Kg<sup>-1</sup>. O valor encontrado por este trabalho apresenta-se inferior ao encontrados por SOUSA e BAZLEN (1998) 30,5(mg.Kg<sup>-1</sup>); ALVES (2004), 5,79(mg.Kg<sup>-1</sup>); ALMEIDA (2002) 3,88(mg.Kg<sup>-1</sup>); SOUZA e colaboradores (2004 a) 7,93(mg.Kg<sup>-1</sup>) e; semelhante ao SILVA (2006), que também encontrou valor nulo nos primeiros quatro meses de armazenamentos.

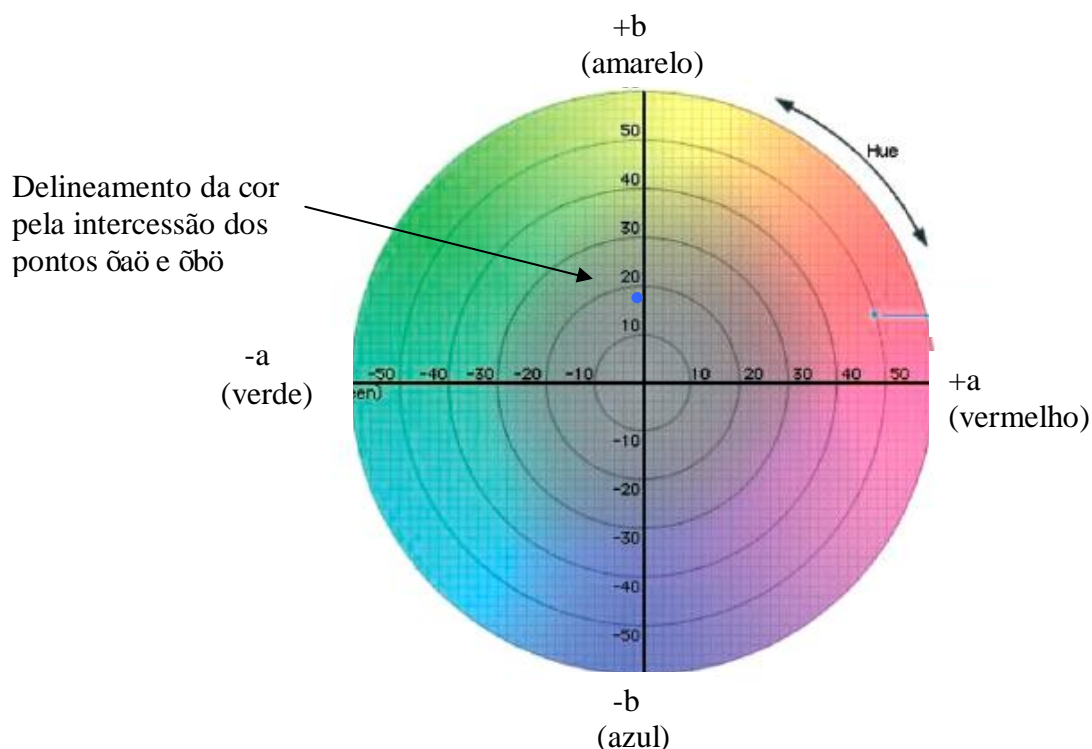
A atividade diastásica encontrada no mel da uruçú-cinzenta foi de 7,5 onde podemos observar a cinética da atividade diastásica pela Figura 23. Esse valor é inferior ao permitido pela legislação (BRASIL, 2000), porém os autores VIT e PULCINI (1996), encontraram valores de atividade 2,60 - 3,00 compatíveis com o encontrado por este trabalho. Porém a legislação Brasileira tolera valor acima de 3 quando o HMF for menor que 15,00 mg.Kg<sup>-1</sup>. O valor da atividade diastásica é um indicativo da qualidade do mel, sua atividade serve de indicativo do grau de conservação e superaquecimento do mel.

Conforme PANPLONA (1989), as enzimas presente no mel são formadas principalmente pelas glândulas hipofaríngeas das abelhas, sua função é digerir a molécula de amido, estando envolvida na digestão do pólen, existe uma correlação entre a quantidade de pólen no mel e a atividade de diastase. CRANE (1983) considera que são encontrados níveis mais baixo de atividade diastásica em méis provenientes de rápidos fluxos de néctar, devido ao acúmulo deste material a ser processado no interior da colônia, tendo as abelhas pouco tempo ao processamento. Quando o néctar contém alto teor de açúcares, necessitam menos manipulação pelas abelhas para serem convertidos em mel, apresentando assim uma tendência a níveis mais baixos de invertase e diastase. Explicando-se o resultado baixo de atividade encontrado por este trabalho, pela característica natural das abelhas sem ferrão manipularem muito pouco seus méis.



**Figura 23:** Cinética da atividade diastásica presente no mel de abelha sem ferrão dos produtores da Flecheira de Tracuateua-PA.

O mel de abelha sem ferrão apresentou no espaço L, luminosidade intermediária, atingindo valor de 52,63. Para a cromátide  $a^*$ , apresentou valor negativo de -0,56 e valor positivo para "b", +19,89; indicando uma cor verde pouco intensa tendendo mais para o amarelo, as intercessões dos pontos  $a^*$  e  $b^*$  estão representadas na Figura 24.



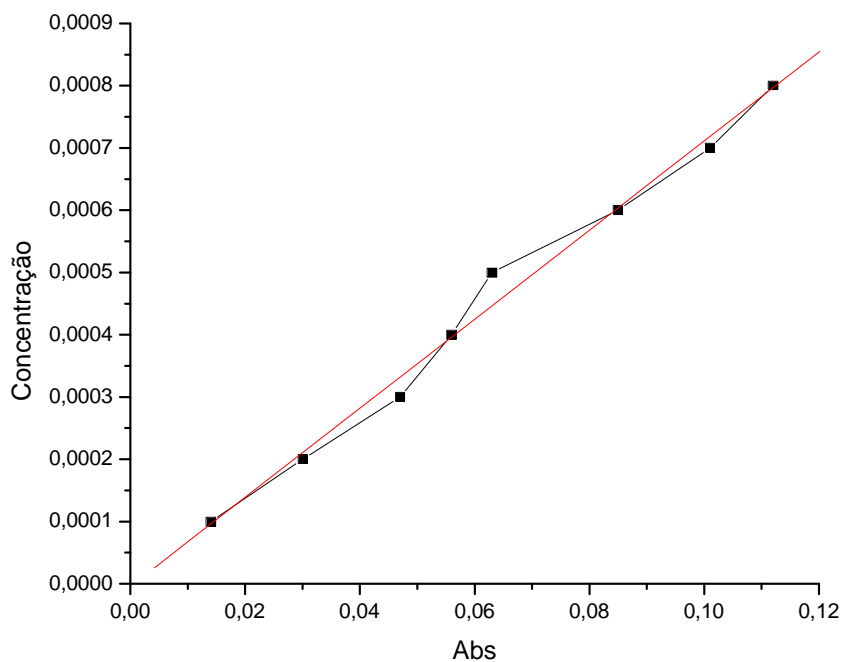
**Figura 24:** Representação da cor do mel pelo círculo cromático

A classificação da cor do mel pela escala de Pfund apresentou coloração âmbar claro, concordando com o colorímetro representado pelo círculo cromático. A cor observada está dentro da norma vigente que pode variar desde o branco-água até âmbar-escuro (BRASIL, 2000). Os autores ALVES (2004); SILVA (2006) e ALMEIDA (2002) encontraram resultados semelhantes com este trabalho, os quais, também encontraram méis de abelha sem ferrão com coloração âmbar claro.

mpo de estocagem, a luz, o calor e as possíveis reações enzimáticas podem afetar estas propriedades físicas e mudança de coloração.

#### 4.5.9 Compostos fenólicos

Segundo GROSS (1981) durante o metabolismo secundário das plantas vários ácidos fenólicos e seus derivados, principalmente do ácido benzóico, são formados. Também tem sido demonstrado que as concentrações destas substâncias são variáveis entre as diferentes espécies vegetais (HERRMANN, 1989). A equação da curva:  $y = 0,00715.x$ , foi determinada para quantificação do teor de fenólicos totais no mel, obtida a partir das diferentes concentrações de solução de ácido tânico como padrão. A curva de quantificação obtida encontra-se na Figura 25 a seguir.



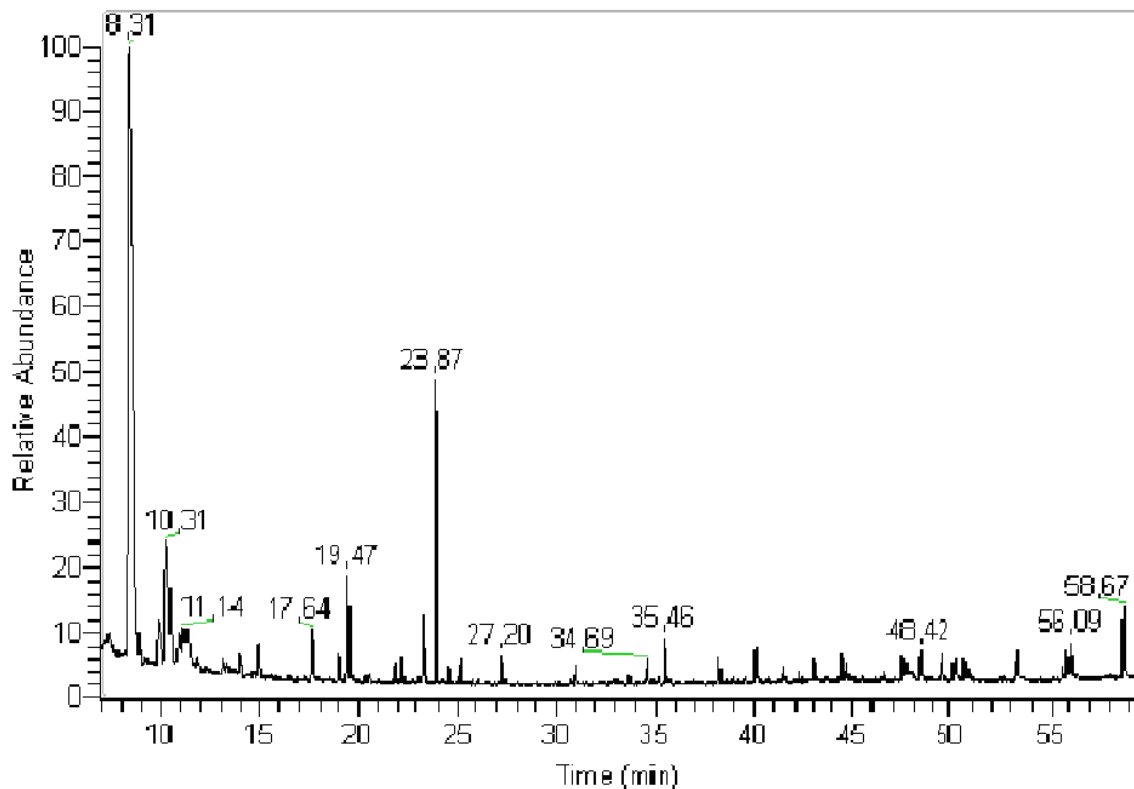
**Figura 25:** Curva de quantificação de fenólicos totais: Absorvância (Abs) versus concentração de ácido tânico (mg/g). Coeficiente de correlação:  $R^2 = 0,99476$ .

Através da equação da reta foi possível determinar a concentração de fenólicos totais, a concentração encontrada no mel de abelha sem ferrão foi de 0,008mg/g. GIL e colaboradores (1995) também encontraram a presença de

...determinou pequenas concentrações de flavonóide (0,1 a 1,0 mg/g de mel) em amostras de mel de *Rosmarinus officinalis* L.

#### 4.5.10 Composição das substâncias voláteis presente no mel de abelha sem ferrão da Comunidade da Flecheira ËTracuateua, PA.

A região Norte apresenta uma ampla composição florística. O mel em estudo, o silvestre, é oriundo dessa vasta diversidade de plantas, o que permite uma variação no perfil do aroma do mel. Desta maneira, este trabalho avaliou o perfil cromatográfico dos voláteis do mel de abelha sem ferrão da comunidade da Flecheira do município de Tracuateua-PA, demonstrado na Figura 26.



**Figura 26:** Perfil cromatográfico dos voláteis de mel de abelha sem ferrão da comunidade da Flecheira do município de Tracuateua . PA

stâncias voláteis no mel de abelha sem ferrão por cromatografia gasosa, está representado na Tabela 10. O mel apresentou como substância majoritária o limoneno, seguido do orto guaiacol, -cariofileno, óxido cis de linalol e óxido trans de linalol. O óxido cis-linalol foi encontrado por Bastos e colaboradores (2002), este composto é típico de laranjeira ou plantas cítricas.

**Tabela 10:** Porcentagem relativa e identificação das substâncias voláteis de mel de abelha sem ferrão.

Substâncias voláteis	Tempo de Retenção (min.)	Área em %
NI	3,72	0,28
NI	7,41	0,51
limoneno	8,31	55,65
Oxido de cis-linalol	9,81	2,62
Orto-guaiacol	10,31	8,73
Óxido de trans-linalol	10,41	3,26
Linalol; 3,7-dimetil-1,5,7 Octatrien-3-ol	10,91	4,21
Fenil etil álcool	11,14	1,72
NI	13,16	0,19
NI	13,46	0,07
naftaleno	13,86	0,76
dodecano	14,93	0,95
3,4,5-trimetilfenol	17,64	1,07
tridecano	19,09	0,47
NI	19,47	2,16
Isso safrol	21,87	0,3
-copaeno	22,15	0,37
tetradecano	23,22	1,05
-cariofileno	23,87	6,39

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

	24,57	0,34
-humuleno	25,22	0,34
pentadecano	27,20	0,39
hexadecano	31,03	0,25
heptadecano	34,69	0,36
NI	35,46	0,69
octadecano	38,17	0,39
NI	40,06	0,63
ftalato	43,07	1,76
NI	48,42	0,44
NI	49,55	0,41
NI	50,11	0,3
NI	50,61	0,3
NI	53,41	0,41
NI	55,66	0,12
NI	56,09	0,57
NI	58,67	1,37
NI	59,59	0,17

NI: Composto Não Identificado



## mel de abelha

A composição química de mel é altamente dependente da origem floral, como também, as combinações químicas do mel podem sofrer modificações por tempo de armazenamento. A interação entre os tratamentos x tempo de armazenamento, não afetou significativamente nenhuma das variáveis estudadas. Isoladamente, os tratamentos obtiveram valores significativos para as variáveis de respostas (cor, acidez, Hidroximetilfurfural- HMF e pH, Tabela 10).

**Tabela 11:** Valores médios de cor (ABS), HMF, pH e acidez, referentes ao estudo da estabilidade do mel de abelha em condições acelerada no período de quatro semanas.

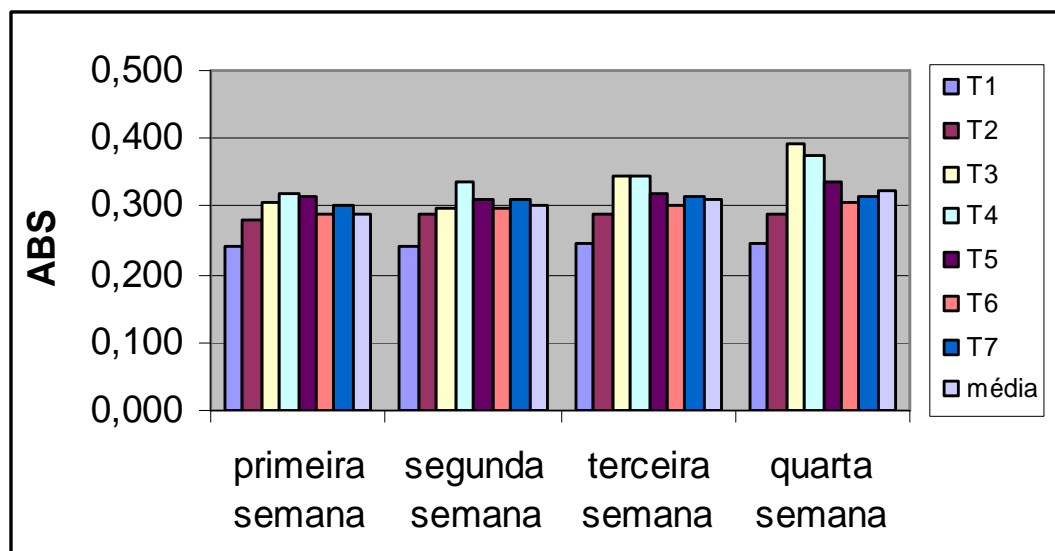
Tratamentos	Variáveis de respostas			
	cor (ABS)	HMF	pH	acidez
T1	0,241 G	0,00 E	4,32 A	67,14 F
T2	0,286 F	10,15 C	4,11 CD	105,89 D
T3	0,333 B	13,65 A	4,18 B	117,92 A
T4	0,344 A	7,32 D	4,14 C	113,19 B
T5	0,319 C	11,90 BC	4,12 CD	110,26 C
T6	0,298 E	14,99 A	4,09 D	104,81 E
T7	0,310 D	15,92 A	4,14 C	105,5 D

ABS . Absorvância; T1: Mel armazenado na geladeira a 5°C; T2: Sem tratamento armazenado na câmara BDO a 45°C (branco); T3: Mel acrescentado 150mg de bromelina, armazenado na câmara BDO a 45°C; T4: Mel acrescentado 70mg de bromelina, armazenado na câmara BDO a 45°C; T5: Mel acrescentado 20mg de bromelina, armazenado na câmara BDO a 45°C; T6: Mel acrescentado 5mg de bromelina, armazenado na câmara BDO a 45°C; T7: Mel pasteurizado a 65°C, armazenado na câmara BDO a 45°C

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, nas colunas, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Segundo Georgio Venturieri (relato pessoal), méis de *M. fasciculata*, colhidos de meliponicultores da comunidade da Flecheira, Tracuateua, o mel após armazenamento prolongado apresentava-se escurecido. Através do estudo de estabilidade, observou-se que os tratamentos T3 e T4 apresentaram valores médios de absorvância mais elevados que os demais tratamentos (Tabela 10). Porém apesar de haver diferenças significativas entre os valores médios de ABS, todos os tratamentos, com exceção do tratamento T3, conforme a classificação de Pfund apresentaram dentro da coloração âmbar claro, seus valores médios de absorvância, 0,241 a 0,333, na escala de Pfund, não ultrapassaram as ABS de 0,238 a 0,333. O tratamento T4, somente na quarta semana, apresentou coloração entre âmbar claro e âmbar (Figura 27).

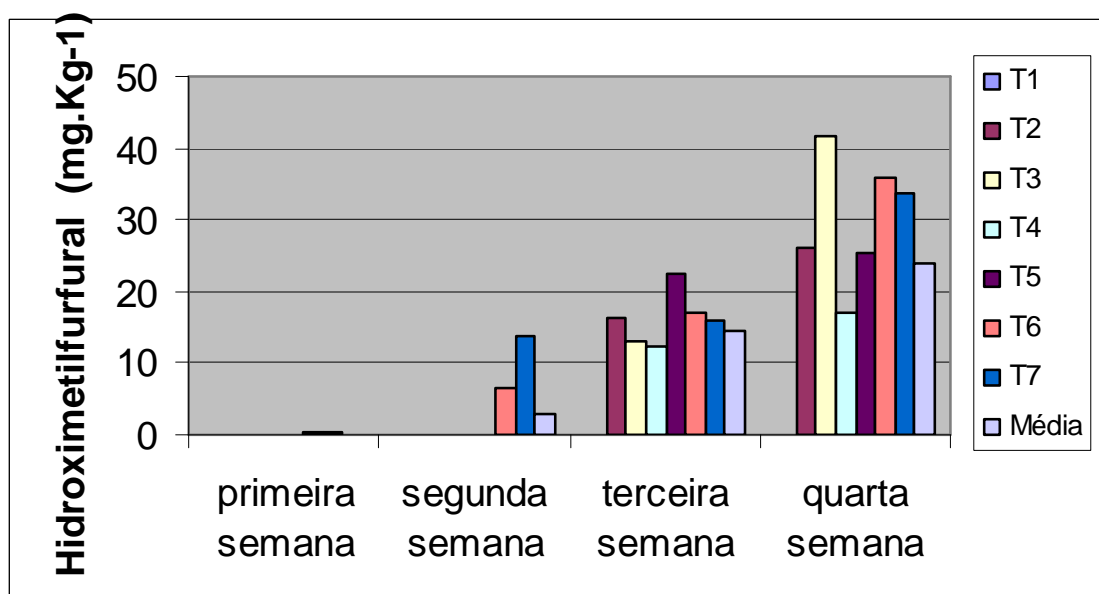
Em concordância com este estudo, AZEREDO e colaboradores (1999) analisaram amostra de mel de *A. mellifera* e SILVA (2006) que analisou mel de *A. mellifera* e *M. fasciculata* observaram que após armazenamento prolongado do mel *in natura* não houve também alteração de coloração.



**Figura 27:** Comportamento da coloração do mel de abelha sem ferrão conforme os valores médios de ABS nos tratamentos: T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7, durante quatro semanas.

O aquecimento induz a produção de hidroximetilfurfural (HMF) que provoca o escurecimento. Essa substância é produzida naturalmente durante o envelhecimento do mel, sendo sua reação acelerada pelo aquecimento e seu teor pode ser considerado como um índice de envelhecimento. Os tratamentos T3, T4 e T7 apresentaram maiores valores de hidroximetilfurfural, porém não apresentaram diferença significativa em si, o tratamento T1 como ficou armazenado na geladeira e não sofreu tratamento térmico não produziu HMF (Tabela 10).

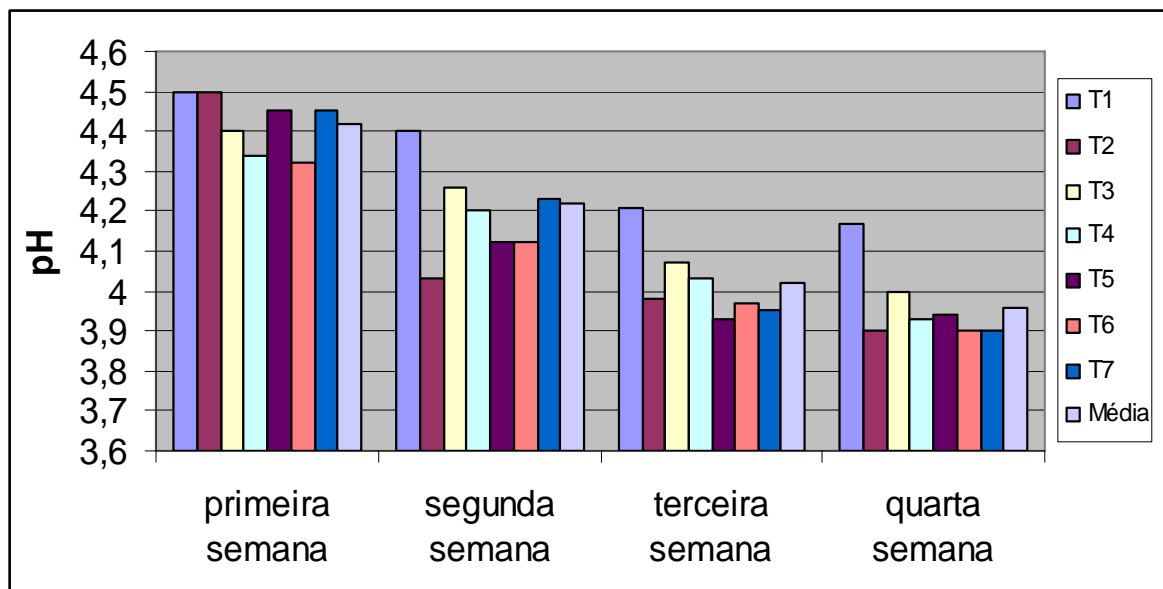
Pela Figura 28, observa-se que a partir da terceira semana, em quase todos os tratamentos houve a formação de HMF.



**Figura 28:** Valores médios de Hidroximetilfurfural do mel de abelha sem ferrão nos tratamentos: T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7, durante quatro semanas.

Na Tabela 10, evidenciou-se que os resultados de pH obtidos neste trabalho variaram entre 4,32 a 4,09. O tratamento T1 atingiu valores significativamente maiores aos demais tratamentos.

É importante mencionar que, embora sejam pequenas as variações do pH existentes entre os tratamentos, deve-se considerar que por tratar-se de uma escala logarítmica, a diferença de uma unidade significa uma mudança de 10 vezes na concentração de íons de hidrogênio (PAVAN, 1997).

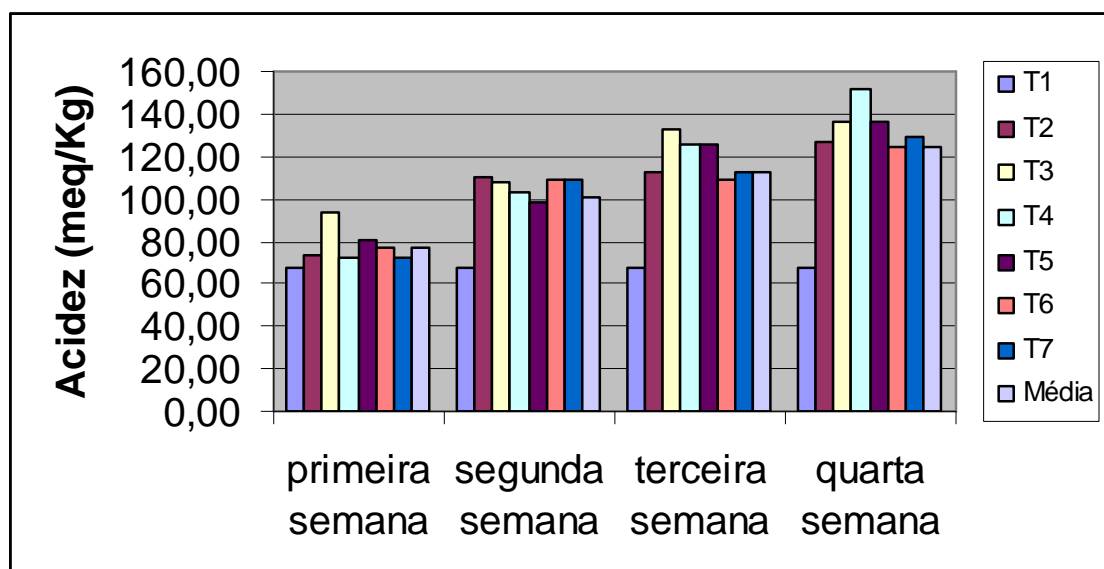


**Figura 29:** Valores médios de pH do mel de abelha sem ferrão nos tratamentos: T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7, durante quatro semanas.

Através da Figura 29, pode-se observar que em todos os tratamentos nas quatro semanas o pH diminuiu, aumentando a acidificação. Os valores de pH, abaixo de 4,5, são considerados de alta acidez, devido a síntese de compostos orgânicos, como fenóis, polifenóis, e outros compostos, que ao reagirem liberam íons  $H^+$ .

Em relação ao valor médio de acidez, o tratamento T3 seguido do T4 atingiram maiores valores de significância, em comparação aos demais tratamentos. Esperava-se que a presença de enzimas proteolíticas estabiliza-se os efeitos do envelhecimento, dando-lhe mais estabilidade, o tratamento T6 que continha menor teor de bromelina apresentou-se estatisticamente mais estável que os tratamentos T3, T4, T5 (Tabela 10).

Através da Figura 30, observa-se que nas quatro semanas a acidez apresentou um acréscimo, indicando que o mel comporta-se mais ácido conforme o tempo de estocagem, isso se deve a formação de substâncias ácidas, facilitada pelo alto teor de umidade, típico a esse tipo de mel. Indicando que uns dos problemas do armazenamento para esse tipo de mel não foi a coloração e sim a acidez. Concordando com MOURA e colaboradores (2002) que estudaram as alterações sofridas por méis armazenados em temperatura ambiente (30-42°C) durante 6 meses, analisaram as variações da faixa de cor e dos teores de acidez, seus resultados mostraram que o armazenamento do mel nessas condições aumentou a sua acidez em 33%, mas a cor dos méis permaneceu na mesma classificação.



**Figura 30:** Valores médios de acidez do mel de abelha sem ferrão nos tratamentos: T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7, durante quatro semanas.

Os parâmetros pH, proteína, resíduo mineral fixo, acidez total e açúcares redutores do mel de abelha sem ferrão apresentaram valores dentro dos padrões do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de *Apis mellifera* (Ministério da Agricultura e do Abastecimento);

Valores médios de umidade e atividade de diastásica encontraram-se fora dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, porém todos os valores apresentaram-se dentro do encontrado por trabalhos relacionados de abelhas sem ferrão, indicando a necessidade de se estabelecer um padrão neste tipo de mel;

A metodologia descrita por SANTOS, MALASPINA, PALMA (2003), apresentou-se satisfatória na análise de atividade diastásica.

A concentração de minerais encontrado no mel de abelha sem ferrão em estudo (*M. fasciculata*) foi semelhante ao encontrados por autores que trabalharam com méis de espécies *A. mellifera*, indicando que este não é um parâmetro de comparação entre as espécies;

O mel apresentou-se estável em relação a cor no estudo de estabilidade, em quase todos os tratamentos o mel apresentou coloração âmbar claro. Indicando que a coloração comportou-se estável ao envelhecimento. Em contrapartida a acidez foi uma das vadeáveis de respostas que obtiveram maior variação no decorrer das semanas, indicando a necessidade de estudos de controle de acides nesse tipo de mel.

A extração por EDS (Extração por Destilação Simultânea) comportou-se como um bom método de extração de aromas. O perfil aromático apresentou como compostos majoritários o limoneno, orto guaiacol, óxido cis de linalol e óxido trans de linalol.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy.** Academic Press. New York. 1989

AMMON, R. - Der Ursprung der Diastase des Bienenhonigs, in Biochem. Zeitschr., 319, pp.295-99, 1949.

AMIOT, M. J.; AUBERT, S.; GONNET, M.; TACCHINI, M. Les composés phénoliques des miels: étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. **Apidologie**, v.20, p.115-125, 1989.

ALMEIDA, D. Espécies de abelhas (Hymenoptera:Apoidea) e Tipificação dos méis por elas produzidas em áreas de Cerrado do município de Pirassununga - São Paulo. **Dissertação (Mestrado)**. Escola Superior Agrícola Luiz de Queiroz+ Universidade de São Paulo. 2002.

ALVES, R. M. de O. *Melipona mandacaia* Smith, 1863 (Hymenoptera, Apidae): aspectos de interesse agrônômico. Cruz das Almas, 2004. p.67. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal da Bahia, Mestrado em Ciências Agrárias.

ANDRADE, E. H. de A.; SANTOS, A. S.; ZOGHBI, M. das G.; MAIA, J. G. **Volatile constituents of fruits of *Astrocarium vulgare* Mart. And *Bactris gasipaes* H.B.K. (Arecaceae).** Flavour and Fragrance Journal. 13, 151-153. 1997.

ANKLAM, E. A. Review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origins of honey. Food Chem. 1998. p549. 62.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis.** Washington, 1997, 1170p.

AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. C.; DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis-RJ. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, p.3-7, 1999.

BACHMANN, S.; MEIER M.; KAENZIG, A. 5-Hydroxymethyl-2-furfural in lebensmitteln. Lebensmittelchemie. 1997. p49. 50.

BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; PRASAIN, J. K.; MATSUSHIGE, K.; SAIKI, I.; KADOTA, S. Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities. **Journal of Natural Products**, v.53, n.5-6, p. 896-900, 1998.

BASTOS, D. H. M.; FRANCISCO, M. R. B.; SILVA M. A. A. P.; JANZANTTI, N. S.; MARQUES, M. O. M. **Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis**

BELITIZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza. Espanha.1997.

BERAHIA, T.; CERRATI, C.; SABATIER, S.; AMIOT, M. J. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of flavonoids in honey. *Sciences Des Aliments*, v.13, n.1, p.15-24, 1993.

BIACHI, E. M. **La miel, características y composición** **È Análisis y Adulteraciones**. Santiago del Estero: UNSE . CEDIA, 1981.

BOGDANOV, Stefan. **Harmonised Methods of the International Honey Commission**. Swiss Bee Research Centre. Bern, Switzerland, 2002.

BOGDANOV, S.; MARTIN, P.; LÜLLMANN, C. **Harmonised Methods of the European Honey Commission**. *Apidologie*, Paris, Extra Issue, p.1 - 59, 1997.

BRADFORD, M. M. **Analitical Biochemistry**. v. 72, 1976. p.248.

BRASIL. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 out. 2000. Seção 1, p.16-17.

CAC-Codex Alimentarius Commission. **Official methods of analysis**. v.3, Supl.2, 1990. p.15-39.

CAMPOS, O. de A.; PERUQUETTI, C. R. **Biologia e criação de abelhas sem ferrão**. Informe técnico. Universidade Federal de Viçosa.1999.p. 36.

CAMPOS, G.; NAPPI, G. U.; RASLAN, D.; AUGUSTI, R. **Substâncias voláteis em mel floral e mel de melato**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v.20. Campinas. 2000.

CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. de A.; SODRÉ, G. da SILVA.; MARCHINI, L. C.; A. R. M. de O. **Mel de abelha sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. Cruz das Almas. Bahia. 2005.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Campinas: Unicamp. 1999.



TUBEROSO, C.I.G. Influence of aging on the quality of honey. *Industria Conserv. v.78*, p. 266-271, 1997.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (C.A.C.). **Official methods of analysis**. V. 3. Supl 2. 1990.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.7, n.2, p. 66-76, 1996.

COSTA, N. JR, Casa do Apicultor de Campinas. Apóstila para curso básico de meliponicultura. Campinas. São Paulo. 2000.

CRANE, E. **O livro do mel**. São Paulo: Nobel, 1983. 226p.

DANTAS, F.M.; MARQUES, D.D.; OLIVEIRA, M.L.; MORATO, E.F. 1998. Sobre os méis de abelhas indígenas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) de Rio Branco, Acre. *In: Congresso Brasileiro de Zoologia*, 22. Recife. **Anais**. Recife: 1998. p.194.

DAYRELL, I. O.; VITAL, N. C. Comparação entre dois métodos oficiais para determinação de hidroximetilfurfural (HMF) em mel brasileiro. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 1, n. 1, 1991, p. 137-141.

DENADAI, J. M.; RAMOS FILHO, M. M.; COSTA, D. C. Características físico-químicas de mel de abelhas Jataí (*Tetragonisca angustula*) do município de Campo Grande MS. Obtenção de parâmetros para análise de rotina. *In: XIV CONGRASSO BRASILEIRO DE APICULTURA*, **Anais**. 2002. p. 80.

EMBRAPA, Amazônia Oriental. **Plantas apícolas**. Disponível no site <<http://www.cpatu.embrapa.br/meliponicultura/pages/plantas.htm>> Acesso dia 04 de agosto de 2007.

FERRERES, F.; TOMAS-BARBERAN, F. A.; GIL, M. I.; TOMAS-LORENTE, F. An HPLC technique for flavonoid analysis in honey. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.56, n.1, p.49-56, 1991.

FERRERES, F.; JUAN, T.; PEREZ-ARQUILLUE, C.; HERRERA-MARTEACHE, A.; GARCIA-VIGUERA, C.; TOMAS-BARBERAN, F. A. Evaluation of pollen as a source of Kaempferol in rosemary honey. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.77, n.4, p.506-510, 1998.

FOLIN, OTTO AND DENIS, W. **On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents**. From the Biochemical Laboratory of Harvard Medical School, Boston, 1912.

FREIMAN, L. O.; SABAA-SRUR, A. U. O. O Aproveitamento dos resíduos da agroindústria do abacaxi (*Ananás Comosus* L. Merrill) para a produção de bromelina. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, São Paulo. Rev. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**. v.16. out-dez. 1996. p246-249.

GIL, M. I.; FERRERES, F.; ORTIZ, A.; SUBRA, E.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Plant phenolic metabolites and floral origin of rosemary honey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, n.11, p.2833-2838, 1995.

GROSS, G. G. The biochemistry of plants. **Secondary plant products**, academi press, v.7, 1981.

HERRMANN, K. Ocurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, v.28, n.4, p.315-347, 1989.

HERNÁNDEZ, C. M.; FRAGA, J. M. G.; JIMÉNEZ, A. I.; JIMÉNEZ, F.; ARIAS, J. J. Characterization of honey from the Canary Islands: determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. Rev. **Food chemistry**. Vol. 93. 2004. p. 449-458.

IBGE, Diretoria de Pesquisas, Departamento de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2004.

KOMATSU, S. S. **Caracterização físico - química de méis de *Apis melífera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae) de diferentes municípios do estado de São Paulo**. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1996.

KUNITZ, E. Crystalline soybean trypsin. II. General properties. *Jornal of Physiology*, New York, 30:290-310. 1947.

LASCEV, G.; GONNET, M. Analyse par radioactivation du contenu mineral d'un miel. Possibilite de préciser son origine géographique. *Apidologie*, v.5, 1974. p 201-223.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de Meliponinés du Brésil. *Apidologie*, v. 22, p.61-73. 1991.

LENGLER, S. **Inspecção e controle da qualidade do mel.** In: SEMINÁRIO ESTADUAL DE APICULTURA, 5.; ENCONTRO DE APICULTORES DO MERCOSUL, São Borja, RS. 2000.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica.** São Paulo: Savier, 2002, 975p.

LOPEZ, G. I.; VIAÑAS, C.; BLANCO, M.; HERNÁNDEZ, C. M. Fast determination of calcium, magnesium and zinc in honey using continuous flow flame atomic absorption spectrometry. *Rev. Elsevier Science*. vol. 49. 1999. p.597-602.

MARCHINI, L. C. **Caracterização de amostras de méis *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) do Estado de São Paulo.** Tese. Escola Superior Agrícola+Luiz de Queiroz+. Universidade de São Paulo. 2001.

MATISSEK, R.; SCHENEPEL, F. M.; STEINER, G. **Análisis de los alimentos: Fundamentos, métodos, aplicaciones.** Ed. Acribia,S.A. Espanha, 1998.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental.** Fortaleza. Ed. UFC.1988.

MARTOS, I.; FERRERES, F.; TOMAS-BARBERAN, F. A. Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, n.5, p.1498-1502, 2000.

MELO, Z. F. N. **Características físico-química de méis de abelha (*Apis mellifera* L.) em diferentes condições de armazenamento.** 2002. 71 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

MERCOSUL/GMC/RES. NO. **Regulamento Técnico Mercosul.** Identidade e qualidade do mel+. 1999.

MINOLTA, Co Ltda. **Precise Color Communication.** Color Control from feeling to instrumentation . Osaka, Japan. 1994.

MONTEIRO, JULIO MARCELINO; ALBUQUERQUE, ULYSSES PAULINO DE; ARAÚJO, ELCIDA LIMA DE; AMORIM, ELBA LÚCIA CAVALCANTI. **Taninos: Uma abordagem da química à ecologia.** *Química Nova*, vol.28, N<sup>o</sup>. 5, 892-896, 2005.

MOURA, S. G. de; SOUZA, D. C.; CARNEIRO, J. G. M. Variação da cor e do teor de acidez em méis em função do tempo de armazenamento nas condições de

brasileiro de Apicultura, 14., Campo Grande, 2002.  
**Anais.** Campo Grande. Confederação Brasileira de Apicultura, 2002. p.101

MULLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31. n.3, 126-128, 1959.

NEKRASOV, V. V. Practical Organic Chemistry. Russian. 1978

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão.** São Paulo. Ed. Nogueirapis. 1997. 445p.

NOLLER, C. R. Chemistry of organic compounds. 3rd ed. Philadelphia, Pa.: W. B. Saunders Co. 1965. 406 p.

NURSTEN, H. E. Key mechanistic problems by the Maillard reaction. In: Finot PA, Aeschbacher HU, Hirrell RF, Liardon R, editors. The Maillard reaction in food processing, human nutrition and physiology. Basel, Switzerland: Borkauser Verlag. 1990. p 146.

ORTIZ-VALBUENA, A. **The ash content of 63 honey samples from la alcarri and neighbouring areas, collected in the period 1985-1987.** Cuadernos de Apicultura. Resumos. V.40, n.4. 1989. p. 360.

PAMPLONA, B. Qualidade do mel. **X Congresso Brasileiro de Apicultura**, Rio Quente, GO, p. 353-356. 1994.

PARK, Y.K.; KOO, M.H.; SATO, H.H.; CONTADO, J. L. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.38, n.4, p.1253-1259, 1995.

PAVAN, M. A.; MIYZAWA, M. **Lições de fertilidade do solo: pH**, Circular, 93, IAPAR, 1997. 47p. ilustr.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental.** Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba. São Paulo. 14ª Edição. 2000. 477. p.

REED, R.; HOLMES, D.; WEYERS, J.; JONES, A. J. Practical Skills in Biomolecular Sciences. Ed. Prentice Hall. 1998

RÊGO, J. G. S.; XIMENES, R. S. S. CAREIRO, J. G. M. Hidroximetilfurfural e diastases em amostras de méis de *A. mellifera*. In. ENCONTRO SOBRE ABELHAS , 5., Ribeirão Preto. 2002. **Anais.** Ribeirão preto: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2002. p.285.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

and color changes of barley grain. Proceedings of the 10th Australian Barley Technical Symposium; Canberra, Australia; 2001 Sept 16. 20. Gosford, NSW, Australia: The Regional Institute Ltd. Available from: [www.regional.org.au/au/abts/2001/t2/reuss.htm](http://www.regional.org.au/au/abts/2001/t2/reuss.htm). Accessed May 3, 2005.

RIBEIRO-CAMPOS, M. G.; SABATIER, S.; AMIOT, M. J.; AUBERT, S. Characterization of flavonoids in three hiveproducts: bee pollen, propolis and honey. **Planta Medica**, v.56, p.580-581, 1990.

RINAUDO, M.T.; PONZETTO, C.; VIDANO, C.; MARLETTO, F. The origin of honey amylase. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 46, n. 2, p. 253-256, 1973.

SABATIER, S.; AMIOT, M. J.; TACCHINI, M.; AUBERT, S. Identification of flavonoids in sunflower honey. **Journal of Food Science**, v.57, n.3, p.773-777, 1992.

SAGRI, Secretaria Executiva de Agricultura. **Recursos do Estado garantem o fomento da cadeia produtiva do mel**. Setembro de 2005.

SANTOS, A. S.; ALVES, S. de M.; FIGUEIREDO, F. J. C.; ROCHA NETO, O. G. da. **Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório**. Comunicado Técnico 99, Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA. Novembro, 2004.

SANTOS, K. S.; MALASPINA, O.; PALMA, M. S. Cinética da diastáse em méis de diferentes origens florais. Um novo protocolo experimental. **Mensagem Doce**. São Paulo, n.70, p.2-4, mar. 2003.

SCHWEITZER, Monsenhor Paul. **Qualidade do mel**. Revista Abeille de France, 866, janeiro 2001. Sombornon, França. Mensagem Doce, n. 61, maio de 2001.

SEAGRO, Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural. **Encontro sobre abelhas nativas no Maranhão movimentada a região da Baixada**. Ascom . Seagro notícias. Maranhão. 1 de dezembro de 2006. [www.seagro.ma.gov.br/2006/12/1/Pagina267](http://www.seagro.ma.gov.br/2006/12/1/Pagina267).

SELLIWANOFF, T. Determination of fructose in human semem. *Belin deutsch. Chem. Ges.*, 1887, 20, 181-1857.

SEMANN, P.; NEIRA, M. Tecnologia de la produccion apícola. Valdivia: Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias Empaste, 1988. 202p.

SMITH, H. Activation analysis in forensic science using radiochemical separations. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON FORENSIC ATIVITY., São Diego, 1966. Proceedings... San Diego: Ed. Guinn, 1966. p.176.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

ISTA-RODRIGUES, A.; FREITAS, B. M. Análises físico-química dos méis das abelhas melíferas (*Apis mellifera*) e uruçú (*Melipona scutellaris*) In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, Campo Grande-MS. Anais.. 2002. p.61.

SILVA, E. V. C. da. **Caracterização e Pasteurização de méis de abelhas *Melipona fasciculata* (URUÇU CINZENTA) e *Apis mellifera* (AFRICANIZADAS)**. Dissertação de Mestrado. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará. Belém, Pará. 2006. 56p.

SILVA, R. do N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. **Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas,23(3): 337-341, set. dez. 2003.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A.R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas Brasileiras: Sistema sistemática e identificação**. Belo Horizonte. 2002. p. 253.

SODRÉ, G. da S. **Características físico-químico e análises políticas de amostras de méis de *Apis melíferas* L. da região litoral norte do Estado da Bahia. Piracicaba Ë SP**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior Agrícola +Luiz de Queroiz+ Universidade de são Paulo. 2000. 83p.

SOUZA, B. de A.; CARVALHO, C. A. L. de; SODRÉ, G. da S.; MARCHINI, L. C. **Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae)**. Ciência Rural. vol.34. Santa Maria. 2004. a.

SOUSA, D. C.; BAZLEN, K. Analises preliminares de características físico-químicas de méis de tiuba (*Melipona compressipes*) do Piauí. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, Salvador-Ba. **Anais**.1998.

SOUZA, R. C. de S.; YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; OLIVEIRA, F. P. M. **Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região Amazônica**. Acta Amazônica, v. 34, n. 2. p.333-336. 2004.b.

TOMAS-BARBERAN, F. A.; MARTOS, I.; FERRERES, F.; RADOVIC, B. S.; ANKLAM, E. HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.81, n.5, p.485-496, 2001.

VARGAS, T. **Avaliação da qualidade do mel produzido na região dos Campos Gerais do Paraná**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa. 2006. p.134.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

**ção e geração de renda: Meliponicultura entre agricultores familiares da Amazônia Oriental.** VII Encontro sobre abelhas. 12 a 15 de julho de 2006.

VENTURIERI, G. C. **Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão.** Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pará. 2004. p.36. a.

VENTURIERI, G. C. **Meliponicultura: Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão.** Comunicado Técnico 118, Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pará. Dezembro, 2004. b.

VERÍSSIMO, M. T. L. Saiba o que é o HMF. **Apicultura no Brasil**, v4, n.24, p.31, 1988.

VIDAL, R.; FREGOSI, E. V. de. **Mel: características, análises físico-químicas, adulteração e transformação.** Barretos: Instituto Tecnológico Científico Roberto Róis. 1984. 95p.

VILLAS-BÔAS JK; MALASPINA O. Parâmetros físico-químicos propostos para o controle de qualidade do mel de abelhas sem ferrão no Brasil. 2005. p.6-16.

VIT, P.; PERSONA-ODDO, L.; MARANO, M. L.; MEJIAS, E. S. de. Venezuelan stingless bee honey characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. *Apidologie*, v. 29, p.377-389. 1998.

VIT, P.; PULCINI, P. Diastase and invertase activities in Meliponini and Trigonini honey from Venezuela, **Journal of Apicultural Research**, v.35, p.57-62, 1996.

WESTON, R. J.; MITCHELL, K. R.; ALLEN, K. L. Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey. **Food Chemistry**, v.64, n.3, p.295-301, 1999.

WINKLER, O. Beitrag zum nachweis und zur bestimmung von oxymethylfurfural in honig und koresthonig. *Z Lebensm Forsch* 1955. p160. 7.

WHITE, J. W. The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. **Bee World**, v. 75, n. 3, p. 104-117, 1994.

WHITE JR, J.W. Composition of honey. In: Crane, E. Honey a comprehensive survey. London, Heinemann, 1976. 157-206p.

WHITE JR, J.W. **Honey.** *Advances in Food Reserch*, v22.1978. p.287-374.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

**determining carbohydrates, hydroxymethylfurfural and p-oxymethylfurfural in honey.** Collaborative study. Journal of the Association of the Official Analytical Chemists. V.62, n3. 1979. p515-526.

WHITE JR, J.W. The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. Bee world, v.75, n3. 1994. p.104-107.

WHITE JR, J.W. La miel. In: Dadant, H. La colmena y la abeja mellifera. Montevideo: Hemisfério Sul, 1989. cap.1, p.21-35.