



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

PATRÍCIA SERTÃO OLIVEIRA

RELAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA COM A ORIGEM GEOGRÁFICA E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE MÉIS DE MELIPONÍNEOS e *Apis mellifera*
PRODUZIDOS NO ESTADO DO PARÁ.

BELÉM
2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PATRÍCIA SERTÃO OLIVEIRA

RELAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA COM A ORIGEM GEOGRÁFICA E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE MÉIS DE MELIPONÍNEOS e *Apis mellifera*
PRODUZIDOS NO ESTADO DO PARÁ.

Dissertação de Mestrado apresentada para
obtenção do grau de Mestre em Química.
Programa de Pós-graduação em Química. Instituto
de Ciências Exatas e Naturais. Universidade
Federal do Pará.

Área de Concentração Química Analítica.

Orientadora Prof^ª. Dr^ª. Regina Celi Sarkis Müller

BELÉM
2010

Oliveira, Patrícia Sertão

Relação da composição química com a origem geográfica e atividade antioxidante de méis de meliponíneos e *Apis mellifera* produzidos no Estado do Pará / (Patrícia Sertão Oliveira); orientadora, Regina Celi Sarkis Müller. – 2010. 109 f. il 28cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará. Instituto de Ciências Exatas e Naturais. Programa de Pós-graduação em Química. Belém, 2010.

1. Cromatografia 2. Análise Química 3. Quimiometria. Müller, Regina Celi Sarkis, orient. II. Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Programa de Pós-graduação em Química. III. Título

CDD22.ed. 543.8

PATRÍCIA SERTÃO OLIVEIRA

RELAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA COM A ORIGEM GEOGRÁFICA E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE MÉIS DE MELIPONÍNEOS e *Apis mellifera*
PRODUZIDOS NO ESTADO DO PARÁ.

Dissertação de Mestrado apresentada para
obtenção do grau de Mestre em Química.
Programa de Pós-graduação em Química. Instituto
de Ciências Exatas e Naturais. Universidade
Federal do Pará.
Área de Concentração Química Analítica.
Orientadora Prof^ª. Dr^ª. Regina Celi Sarkis Müller

Data da aprovação: Belém, PA. 10/05/2010

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Regina Celi Sarkis Müller
Instituto de Ciências Exatas e Naturais/UFPA- orientador

Prof^ª. Dr^ª Dulcidéia da Conceição Palheta
Instituto De Saúde e produção animal/UFRA -Membro

Prof. Dr. Heronides Adonias Dantas Filho
Instituto de Ciências Exatas e Naturais/UFPA - Membro

BELÉM

2010

Dedico esta dissertação aos meus exemplos de vida Antonio e Irany. Estas duas pessoas com muita sabedoria, discernimento, bom senso e dedicação estiveram ao meu lado me encorajando nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória. Aos meus pais, minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida, por iluminar meus caminhos e me proporcionar uma realização profissional;

Aos meus familiares pelo amor e apoio incondicional, em especial à minha querida irmã Letícia S. Oliveira, pelo carinho e paciência.

Ao meu namorado Marcelo Almeida da Silva, pelo amor, dedicação, incentivo, inspiração e sugestões durante toda a execução deste trabalho. TE AMO!!!

À minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Regina Celi Sarkis Müller pela orientação, confiança, amizade e principalmente pelo apoio concedido em todos os momentos;

Aos professores do Programa de pós-graduação em Química pelos conhecimentos transmitidos; em especial à Dr^a Kelly G. F. Dantas pelas sugestões, apoio e confiança.

Ao Dr. Giorgio Venturieri pelo apoio, pelas sugestões, pelos conselhos e dicas informais e pelos livros emprestados.

Ao Pesquisador Marcus Vasconcelos pela orientação na execução das análises e amizade;

À EMBRAPA pela disposição do Laboratório de Agroindústria para a realização de parte deste trabalho.

Ao aluno de Tecnologia Agroindustrial Luã Oliveira no auxílio para a realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Pará (FAPESPA) pelo apoio financeiro para realização deste trabalho.

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste sonho, muito OBRIGADA!

“Bem aventurado o homem que
encontra a sabedoria, e que
adquire o conhecimento.”

(Pv. 3:13)

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivos determinar a composição físico-química, identificar marcadores químicos potenciais usando HPLC e investigar atividade antioxidante de méis das espécies de abelha sem ferrão *Apis mellifera* (africanizadas), e abelhas com ferrão *Melipona flavolineata* (Uruçu-amarela) e *Melipona fasciculata* (Uruçu-cinzenta), coletados de outubro de 2008 a fevereiro de 2010, provenientes dos municípios Tracuateua, São João de Pirabas, Nova Timboteua, São Miguel do Guamá e Vigia pertencentes à mesorregião do nordeste paraense.

A análise estatística multivariada aplicada aos resultados obtidos nas análises físico-químicas mostrou uma significativa diferença entre a composição físico-química dos méis de abelhas africanizadas e a composição dos méis das abelhas indígenas sem ferrão.

Os perfis cromatográficos foram analisados por HPLC e os compostos fenólicos majoritários identificados foram os ácidos gálico, o-cumárico, p-cumárico e o flavonóide quercetina, sendo característico para cada espécie e localidade. Estes resultados mostraram que os ácidos fenólicos e flavonóides podem ser usados para autenticação de origem botânica dos méis.

A atividade antioxidante de méis de *A. mellifera* (São João de Pirabas, Nova Timboteua e São Miguel do Guamá), *M. flavolineata* e *M. fasciculata* (São João de Pirabas), foi elevada e os valores mais baixos para CE_{50} foram obtidos nos méis escuros. A correlação do CE_{50} com teor de polifenóis totais foi 0,87, indicando que o valor terapêutico do mel pode ser atribuído à presença dessas substâncias.

Palavras-Chave: mel, marcadores químicos, HPLC, atividade antioxidante, caracterização físico-química.

ABSTRACT

This study aims to determine the physicochemical composition, identify potential chemical markers using HPLC and investigate antioxidant activity of honeys of stingless bee species *Apis mellifera* (Africanized), and stingless bees *Melipona flavolineata* (Uruçu-amarela) and *Melipona fasciculata* (Uruçu-cinzenta), collected from October 2008 to February 2010, from the municipalities Tracuateua, São João de Pirabas, Nova Timboteua, São Miguel do Guamá and Vigia belonging to the middle region of northeastern Pará.

Multivariate statistical analysis applied to the results obtained in the physicochemical analysis showed a significant difference between the physical and chemical composition of Africanized honey bees and the composition of honeys of stingless native bees.

The chromatographic profiles were analyzed by HPLC and phenolic acids were the major identified gallic, o-coumaric, p-coumaric and the flavonoid quercetin, being characteristic for each species and location. These results showed that the phenolic acids and flavonoids can be used for authentication of botanical origin of honeys.

The antioxidant activity of honey from *A. mellifera* (São João de Pirabas, Nova Timboteua and São Miguel do Guamá), *M. flavolineata* and *M. fasciculata* (São João de Pirabas) was high and the lowest values for EC50 were obtained in dark honey. The correlation of EC50 with total polyphenol content was 0.87, indicating that the therapeutic value of honey can be attributed to the presence of these substances.

Keywords: Honey, chemical markers, HPLC, antioxidant activity, physicochemical characterization.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1. Operária de <i>Apis mellifera</i> (Africanizada)..... | 4 |
| Figura 2. Operária de <i>Melipona flavolineata</i> (Uruçu-amarela)..... | 5 |
| Figura 3. Operária de <i>Melipona fasciculata</i> (Uruçu-cinzenta)..... | 6 |
| Figura 4. Estrutura química dos ácidos benzóicos | 16 |
| Figura 5. Estrutura química dos principais ácidos cinâmicos | 16 |
| Figura 6. Estrutura química das cumarinas | 16 |
| Figura 7. Estrutura química dos flavonóides miricetina e quercetina | 17 |
| Figura 8. Vista interna de caixa racional para criação de abelhas indígenas sem ferrão. | 20 |
| Figura 9. Coleta de mel em caixa racional | 21 |
| Figura 10. Mapa da mesorregião do nordeste paraense..... | 22 |
| Figura 11. Teste de recuperação de compostos fenólicos em diferentes adsorventes..... | 29 |
| Figura 12. Fluxograma do método de extração de ácidos fenólicos | 29 |
| Figura 13. Reação de DPPH em mel | 32 |
| Figura 14. Valores de pH dos méis das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 34 |
| Figura 15. Valores de acidez (meq/ kg) dos méis das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 36 |
| Figura 16. Valores de umidade dos méis das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 39 |
| Figura 17. Valores de açúcar redutor dos méis das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 43 |
| Figura 18. Valores de açúcares totais dos méis das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 45 |
| Figura 19. Valores de sacarose dos méis das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 47 |
| Figura 20. Valores de HMF dos méis das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 51 |
| Figura 21. Valores de ácido ascórbico dos méis das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 55 |
| Figura 22. Valores de polifenóis totais dos méis das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 56 |
| Figura 23. Scores para amostras de méis de <i>A. mellifera</i> e meliponíneos..... | 57 |

| | |
|---|----|
| Figura 24. Loadings para méis amostras de méis de <i>A. mellifera</i> e meliponíneos..... | 58 |
| Figura 25. Dendograma para amostras de méis de <i>A. mellifera</i> e meliponíneos..... | 59 |
| Figura 26. Perfil cromatográfico da mistura dos padrões de ácidos fenólicos e flavonóides à 290 nm..... | 60 |
| Figura 27. Percentual de compostos fenólicos em mel de <i>A. mellifera</i> | 61 |
| Figura 28. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>A. mellifera</i> da região de Tracuateua, através de RP-HPLC à 290nm. | 61 |
| Figura 29. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>A. mellifera</i> da região de São João de Pirabas, através de RP-HPLC à 290nm..... | 62 |
| Figura 30. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>A. mellifera</i> da região de Nova Timboteua, através de RP-HPLC à 290nm..... | 63 |
| Figura 31. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>A. mellifera</i> da região de São Miguel do Guamá, através de RP-HPLC à 290nm..... | 63 |
| Figura 32. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>A. mellifera</i> da região de Vigia, através de RP-HPLC à 290nm..... | 64 |
| Figura 33. Percentual de compostos fenólicos em mel de <i>M. flavolineata</i> | 65 |
| Figura 34. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>M. flavolineata</i> da região de Tracuateua, através de RP-HPLC à 290nm. | 65 |
| Figura 35. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>M. flavolineata</i> da região de São João de Pirabas, através de RP-HPLC à 290nm. | 66 |
| Figura 36. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>M. flavolineata</i> da região de Nova Timboteua, através de RP-HPLC à 290nm. | 67 |
| Figura 37. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>M. flavolineata</i> da região de Vigia, através de RP-HPLC à 290nm. | 68 |
| Figura 38. Percentual de compostos fenólicos em mel de <i>M. fasciculata</i> | 69 |
| Figura 39. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>M. fasciculata</i> da região de Tracuateua, através de RP-HPLC à 290nm..... | 69 |
| Figura 40. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>M. fasciculata</i> da região de São João de Pirabas, através de RP-HPLC à 290nm..... | 70 |
| Figura 41. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>M. fasciculata</i> da região de Nova Timboteua, através de RP-HPLC à 290nm..... | 71 |
| Figura 42. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de <i>M. fasciculata</i> da região de São Miguel do Guamá, através de RP-HPLC à 290nm. | 72 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Legislação Brasileira, Legislação do MERCOSUL, Codex Alimentarius para mel de <i>Apis mellifera</i> e Legislação proposta por Villas-Bôas e Malaspina (2005) para méis de meliponíneos. | 8 |
| Tabela 2. Escala de Pfund..... | 27 |
| Tabela 3. Gradiente de eluição para separação de compostos fenólicos e méis..... | 31 |
| Tabela 4. Valores de pH encontrados para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 33 |
| Tabela 5. Valores de acidez encontrados para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 35 |
| Tabela 6. Valores de umidade encontrados para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 38 |
| Tabela 7. Teores de resíduo mineral fixo encontrados para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 40 |
| Tabela 8. Valores de resíduo mineral fixo para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 41 |
| Tabela 9. Valores de açúcar redutor para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 42 |
| Tabela 10. Valores de açúcar total para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 45 |
| Tabela 11. Valores de sacarose para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 46 |
| Tabela 12. Valores proteína para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 48 |
| Tabela 13. Valores de atividade diastásica para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 50 |
| Tabela 14. Valores de HMF para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 51 |
| Tabela 15. Cores correspondentes aos méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 53 |
| Tabela 16. Valores de HMF para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 54 |

| | |
|--|----|
| Tabela 17. Valores de polifenóis totais para méis “in natura” das espécies <i>A. mellifera</i> , <i>M. flavolineata</i> e <i>M. fasciculata</i> | 55 |
| Tabela 18. Ácidos fenólicos presentes em méis de <i>A. mellifera</i> (africanizada) | 64 |
| Tabela 19. Ácidos fenólicos presentes em méis de <i>M. flavolineata</i> (uruçu-amarela) | 68 |
| Tabela 20. Ácidos fenólicos presentes em méis de <i>M. fasciculata</i> (uruçu-cinzenta) | 72 |
| Tabela 21. Valores de CE ₅₀ (mg/100g) obtidos para os méis das espécies em estudo, bem como os teores totais de fenóis (mg de ácido gálico/ 100g mel) e cor. | 73 |

LISTA DE SIGLAS

HPLC- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês “High Pressure Liquid Chromatography”

RP-HPLC- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de fase reversa, do inglês “Reverse Phase-High Pressure Liquid Chromatography”

UV- Ultra violeta

SPE- Extração em fase sólida, do inglês “Solid Phase Extraction”

PCA- Análise de Componente Principal, do inglês “Principal Components Analysis”

HCA- Análise de Agrupamento Hierárquico, do inglês “Hierarchical Cluster Analysis”

RMF- Resíduo Mineral Fixo

HMF- Hidroximetilfurfural

AD- Atividade Diastásica

AA- Atividade Antioxidante

CE₅₀- Concentração Efetiva em 50 %

meq- miliequivalente

mAU- mili unidade de absorbância, do inglês “mili Unit Absorbance”

AU- Unidade de Absorbância, do inglês “Unit Absorbance”

AOAC- Associação de Químicos Analíticos Oficiais, do inglês “Association of the Official Analytical Chemists”

CAC- Comissão Codex Alimentarius, do inglês “Codex Alimentarius Commission”

IAL- Instituto Adolfo Lutz

SUMÁRIO

| | | |
|---------|--------------------------------------|----|
| 1. | INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 2 |
| 2.1. | Apicultura e Meliponicultura..... | 2 |
| 2.2. | Espécies de estudo..... | 4 |
| 2.2.1. | <i>Apis mellifera</i> | 4 |
| 2.2.2. | <i>Melipona flavolineata</i> | 5 |
| 2.2.3. | <i>Melipona fasciculata</i> | 6 |
| 2.3. | Mel..... | 7 |
| 2.4. | Padrões da Legislação para Méis..... | 8 |
| 2.5. | Caracterização Química do Mel..... | 9 |
| 2.5.1. | Viscosidade..... | 9 |
| 2.5.2. | pH..... | 9 |
| 2.5.3. | Acidez..... | 9 |
| 2.5.4. | Umidade..... | 9 |
| 2.5.5. | Resíduo Mineral Fixo (RMF)..... | 10 |
| 2.5.6. | Sólidos Solúveis..... | 10 |
| 2.5.7. | Cristalização..... | 10 |
| 2.5.8. | Açúcares..... | 11 |
| 2.5.9. | Proteína..... | 11 |
| 2.5.10. | Enzimas..... | 12 |
| 2.5.11. | Atividade Diastásica..... | 13 |
| 2.5.12. | Hidroximetilfurfural (HMF)..... | 13 |
| 2.5.13. | Cor..... | 13 |
| 2.5.14. | Ácido Ascórbico..... | 14 |
| 2.5.15. | Polifenóis Totais..... | 15 |

| | | |
|---------|---|----|
| 2.5.16. | Cromatografia Líquida (HPLC)..... | 17 |
| 2.5.17. | Atividade Antioxidante..... | 18 |
| 2.5.18. | Análise Estatística Multivariada | 18 |
| 3. | METODOLOGIA..... | 20 |
| 3.1. | Obtenção das Amostras..... | 20 |
| 3.2. | Locais de estudo..... | 22 |
| 3.3. | Procedimentos Analíticos | 23 |
| 3.3.1. | pH | 23 |
| 3.3.2. | Acidez Total | 23 |
| 3.3.3. | Umidade | 23 |
| 3.3.4. | Resíduo Mineral Fixo | 23 |
| 3.3.5. | Sólidos Solúveis | 24 |
| 3.3.6. | Açúcares Redutores | 24 |
| 3.3.7. | Açúcares Totais | 24 |
| 3.3.8. | Sacarose..... | 25 |
| 3.3.9. | Proteína..... | 25 |
| 3.3.10. | Atividade Diastásica | 25 |
| 3.3.11. | Hidroximetilfurfural..... | 26 |
| 3.3.12. | Cor | 26 |
| 3.3.13. | Ácido Ascórbico | 27 |
| 3.3.14. | Polifenóis Totais | 27 |
| 3.3.15. | Isolamento de marcadores químicos por HPLC-UV | 28 |
| 3.3.16. | Atividade Antioxidante..... | 31 |
| 3.3.17. | Análise Estatística Multivariada | 32 |
| 4. | RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 33 |
| 4.1. | Caracterização físico-química de méis de <i>Apis mellifera</i> , <i>Melipona flavolineata</i> e <i>Melipona fasciculata</i> | 33 |

| | | |
|---------|--|----|
| 4.1.1. | pH | 33 |
| 4.1.2. | Acidez Total | 35 |
| 4.1.3. | Umidade | 38 |
| 4.1.4. | Resíduo Mineral Fixo | 40 |
| 4.1.5. | Sólidos Solúveis | 41 |
| 4.1.6. | Açúcares | 42 |
| 4.1.7. | Proteína..... | 48 |
| 4.1.8. | Atividade Diastásica..... | 49 |
| 4.1.9. | Hidroximetilfurfural | 50 |
| 4.1.10. | Cor | 53 |
| 4.1.11. | Ácido ascórbico | 54 |
| 4.1.12. | Polifenóis Totais | 55 |
| 4.2. | Análise Estatística Multivariada | 57 |
| 4.3. | Isolamento de marcadores químicos por HPLC- UV em méis de <i>Apis mellifera</i> , <i>Melipona flavolineata</i> e <i>Melipona fasciculata</i> | 60 |
| 4.3.1. | Compostos fenólicos em méis de <i>Apis mellifera</i> | 61 |
| 4.3.2. | Compostos fenólicos em méis de <i>Melipona flavolineata</i> | 65 |
| 4.3.3. | Compostos fenólicos em méis de <i>Melipona fasciculata</i> | 69 |
| 4.4. | Atividade Antioxidante em méis de <i>Apis mellifera</i> , <i>Melipona flavolineata</i> e <i>Melipona fasciculata</i> | 72 |
| 5. | CONCLUSÕES | 74 |
| 6. | PERSPECTIVAS FUTURAS | 76 |
| 7. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 77 |

1. INTRODUÇÃO

A criação racional de abelhas constitui-se em uma atividade na qual se consegue obter bons resultados econômicos, ecológicos e sociais. Essa atividade, desenvolvida ao longo do tempo por pequenos e médios produtores, vem despertando o interesse de muitos criadores e instituições do Brasil (Rodrigues, 2004).

É uma atividade que pode ser integrada a plantios florestais, de fruteiras e de culturas de ciclo curto, podendo contribuir, através da polinização, com o aumento da produção agrícola e regeneração da vegetação natural (Venturieri, 2003).

O Estado do Pará se apresenta com uma gama de possibilidades, tanto para a apicultura¹, como para a meliponicultura², pois possui uma grande diversidade de espécies nativas de abelhas, onde muitas destas abelhas produzem mel de boa qualidade e em quantidade que possibilitam a sua exploração comercial. Além do enquadramento perfeito dentro dos conceitos de diversificação e uso sustentado da terra da Amazônia (Venturieri, 2003).

Os produtos das abelhas, sejam africanizadas ou nativas, têm ganhado cada vez mais espaço nas indústrias alimentícia, cosmético, farmacêutica, e outras, onde há procura de produtos de origem natural. Estas indústrias investem na aquisição destes produtos como base para os produtos industrializados (Rodrigues et al., 2000).

O presente trabalho tem como objetivos determinar a composição físico-química, a atividade antioxidante e a identificação de compostos fenólicos, usando HPLC, nos méis de diferentes espécies de abelhas. Foram analisados méis de *A. mellifera* (africanizada), espécie exótica e *Melipona flavolineata* (uruçu-amarela) e *M. fasciculata* (uruçu-cinzenta), espécies nativas, coletados nos municípios de Tracuateua, São João de Pirabas, Nova Timboteua, São Miguel do Guamá e Vigia (mesorregião do nordeste paraense), visando à comparação das características entre os méis das diferentes espécies de abelhas.

¹ Manejo de abelhas da espécie *Apis mellifera*

² Manejo de abelhas indígenas sem ferrão, também conhecidas como Meliponíneos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Apicultura e Meliponicultura

Hoje, na criação de abelhas, existem duas grandes linhas de estudo: a Apicultura e a Meliponicultura. Dentro da Apicultura, o conhecimento sobre o mel, já vem sendo estudado em várias regiões do Brasil, no entanto na Meliponicultura, esses estudos são mais recentes, sendo desenvolvidos com as abelhas regionais.

As abelhas chamadas de africanizadas, por terem herdado muitas características das abelhas africanas, são consideradas como as responsáveis pelo desenvolvimento apícola do País.

A apicultura apresenta uma rentabilidade altamente satisfatória. Para seu desenvolvimento são necessários: flora apícola abundante, disponibilidade de fontes de água não poluída e pessoas interessadas em desenvolver a atividade. Esses fatores aliados à exploração apícola racional permitem às abelhas a produção de mel, cera pólen, geléia real, própolis, apitoxina e com grande eficiência fazem a polinização das plantas, o que aumenta a produção de frutos e sementes (Carvalho, 2000).

A meliponicultura, nome dado à criação de abelhas da subtribo MELIPONINA³, se enquadra perfeitamente dentro dos conceitos de diversificação e uso sustentado da terra da Amazônia. Os meliponíneos são abelhas dóceis, de fácil manejo e necessitam de pouco investimento para a sua criação. É uma atividade que pode ser integrada a plantios florestais, de fruteiras e de culturas de ciclo curto, podendo contribuir, através da polinização, com o aumento da produção agrícola e regeneração da vegetação natural (Venturieri et al., 2003).

Os Meliponíneos ocupam grande parte das regiões de clima tropical do planeta. Ocupam, também, algumas importantes regiões de clima temperado subtropical. Assim, essas abelhas são encontradas na maior parte do território Latino-Americano, ocorrendo na América do Sul, América Central, Ásia, Ilhas do Pacífico, Austrália, Nova Guiné e África (Nogueira-Neto, 1994).

As regiões Norte e Nordeste se sobressaem como grandes berços para o sucesso da meliponicultura de mercado, fato relacionado ao clima, às espécies existentes e disponibilidade de recursos florais. (Venturieri, 2005; Villas-Bôas & Malaspina, 2005).

³ Conhecidas como abelhas indígenas sem ferrão.

As abelhas são os principais polinizadores das espécies nativas da região. Dentro do conceito de se desenvolver práticas agrícolas economicamente viáveis, ecologicamente sustentáveis e socialmente justas, a meliponicultura se enquadra perfeitamente dentro dos conceitos de diversificação e melhor uso dos recursos naturais. Outra característica da meliponicultura, esta de caráter social, é quanto às necessidades de sua mão de obra. Esta, apesar de especializada e demandando conhecimentos sobre sua biologia e o comportamento das abelhas, podem ser executados por mulheres, jovens e idosos, já que não exige força física e dedicação demorada ao manejo. As abelhas são animais que buscam livremente o seu sustento na natureza, não exigindo alimentação diária ou cuidados veterinários (Venturieri, 2005).

A meliponicultura tem grande potencial econômico por ser uma atividade de baixos custos e por apresentar uma boa renda mensal. Dessa forma, além de se caracterizar como grande incremento às práticas agrícolas do país, a criação de abelhas sem ferrão é hoje uma das possibilidades de inovação para os produtos alimentícios disponíveis no mercado, sendo capaz de ocupar a mão de obra familiar e gerar renda para pequenas propriedades rurais.

Embora produzindo mel em menor quantidade, os meliponíneos têm o importante papel de fornecer um produto que se diferencia do mel de *A. mellifera*, principalmente no sabor peculiar e no aroma, podendo alcançar preços elevados no mercado (Alves, 2005; Cortopassi-Laurino, 2002; Kerr, 1996; Nogueira-Neto, 1997).

De maneira geral, o mel das espécies de meliponíneos tem como principal característica a diferenciação nos teores da sua composição, destacando-se o teor de água (umidade), que o torna menos denso que o mel das abelhas africanizadas (Campos & Modesta, 2000). A cor varia do quase transparente ao âmbar escuro e o gosto e níveis de açúcar dependem da espécie, da época, da região e, principalmente, da florada (Azeredo, 1999). Além dos açúcares em solução, o mel também contém ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas, flavonóides, minerais e uma extensa variedade de compostos orgânicos, que contribuem para sua cor, odor e sabor (Pamplona, 1989).

Apesar da sua importância, a Legislação Brasileira que regulamenta a padronização do mel para fins de comercialização só atende às características do mel de *A. mellifera*, não contemplando o mel das abelhas nativas do país o que leva à necessidade de estudos de diferentes méis destas abelhas para a sua padronização e uma futura Legislação Brasileira (Amavida, 2006; Azeredo, 1999).

2.2. Espécies de estudo

2.2.1. *Apis mellifera*

A abelha *Apis mellifera* (Figura 1) é a espécie considerada como principal produtora do mel comumente utilizado para consumo humano, devido a sua domesticação antiga e por ser originária dos principais países consumidores, apesar da grande diversidade de espécies de abelhas existentes, produzem mel de boa qualidade. A abelha africanizada, no Brasil, é um híbrido das abelhas européias (*A. mellifera mellifera*, *A. mellifera ligustica*, *A. mellifera caucasica* e *A. mellifera carnica*) com a abelha africana *A. mellifera scutellata* (Pereira et al., 2003). O habitat das abelhas *A. mellifera* é bastante diversificado e inclui savana, florestas tropicais, deserto, regiões litorâneas e montanhosas (Pereira et al., 2003). A variabilidade genética dessas abelhas é muito grande, havendo uma predominância das características das abelhas européias no Sul do País, enquanto ao Norte predominam as características das abelhas africanas. Muito agressivas, porém, menos que as africanas, a abelha do Brasil tem grande facilidade de enxamear, alta produtividade, tolerância a doenças e adapta-se a climas mais frios, continuando o trabalho em temperaturas baixas. (Pereira et al., 2003).



Figura 1. Operária de *Apis mellifera* (Africanizada).

2.2.2. *Melipona flavolineata*

A *Melipona flavolineata* (Figura 2) é uma das espécies de abelhas sem ferrão mais comum do nordeste paraense, onde é conhecida como Uruçu-amarela, sendo preferida pelos agricultores para a criação racional, por ser considerada boa produtora de mel. A referida espécie ocorre na porção oriental do Estado do Pará e parte nos Estados do Maranhão e Tocantins (Moure & Kerr, 1950). As colônias são medianamente populosas e as operárias podem ser agressivas. Quanto à higiene, não se conhecem hábitos sujos nesta espécie. O mel é saboroso e esta espécie pode ser criada com facilidade (Maués-Venturieri, 1991).

A *M. flavolineata* geralmente é encontrada no pé de árvores grossas. Ocorrem na região Bragantina, próxima dos igapós (matas ciliares ou parcialmente inundáveis), é ali que hoje encontramos a maioria dos ninhos naturais desta espécie. (Venturieri, 2005).

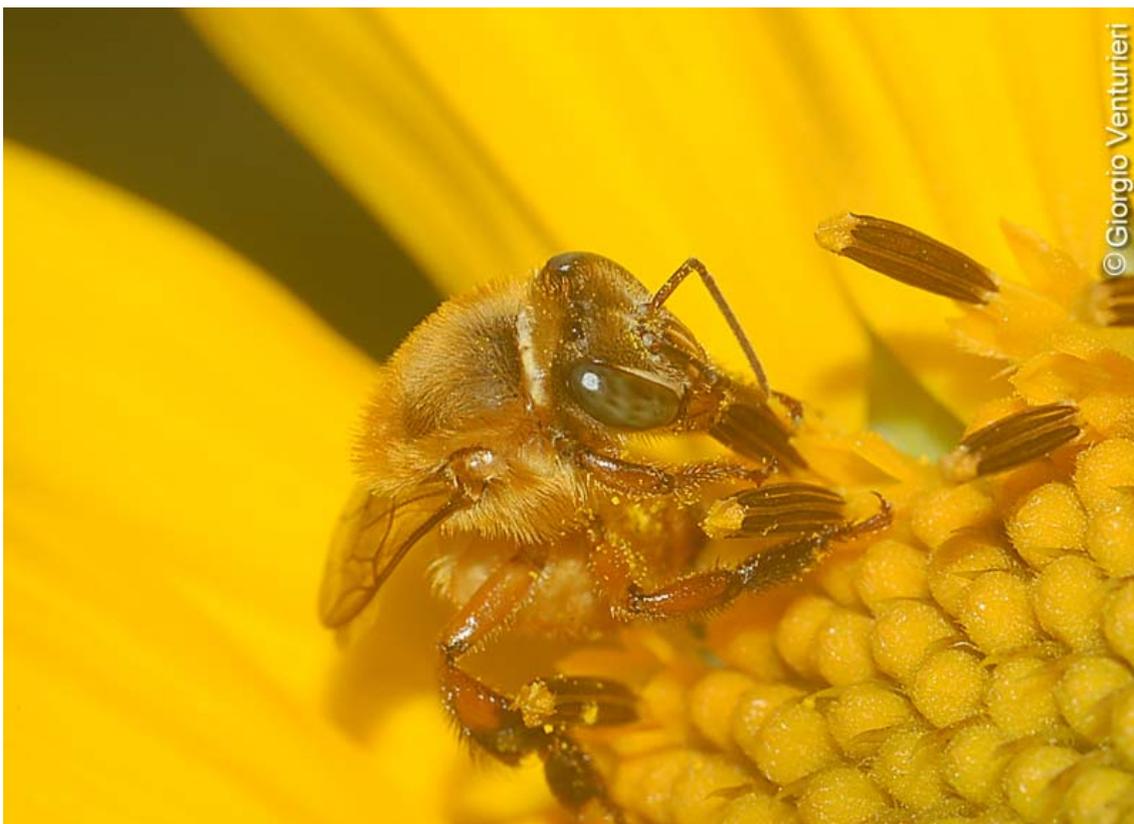


Figura 2. Operária de *Melipona flavolineata* (Uruçu-amarela)

2.2.3. *Melipona fasciculata*

A *Melipona fasciculata* (Figura 3) é uma espécie relativamente rara em áreas de terra firme, mas ainda muito abundante nas regiões costeiras, especialmente encontradas em troncos de árvores de mangue vermelho (*Rhisophora* sp.). Produz mel de excelente qualidade e em boa quantidade. Em geral é menos agressiva que a uruçú-amarela (Venturieri, 2005).

As abelhas da espécie *M. fasciculata* produzem mel de excelente qualidade e em boa quantidade. Possui hábitos higiênicos (não coletam fezes) e armazenam seus méis em potes constituídos quase que exclusivamente de cera. O período de floração coincide com o de menores índices pluviométricos, em que na região Amazônia Oriental vai de julho a dezembro. A maior produção de mel concentra-se, entretanto, de agosto a novembro (Venturieri et al., 2003).

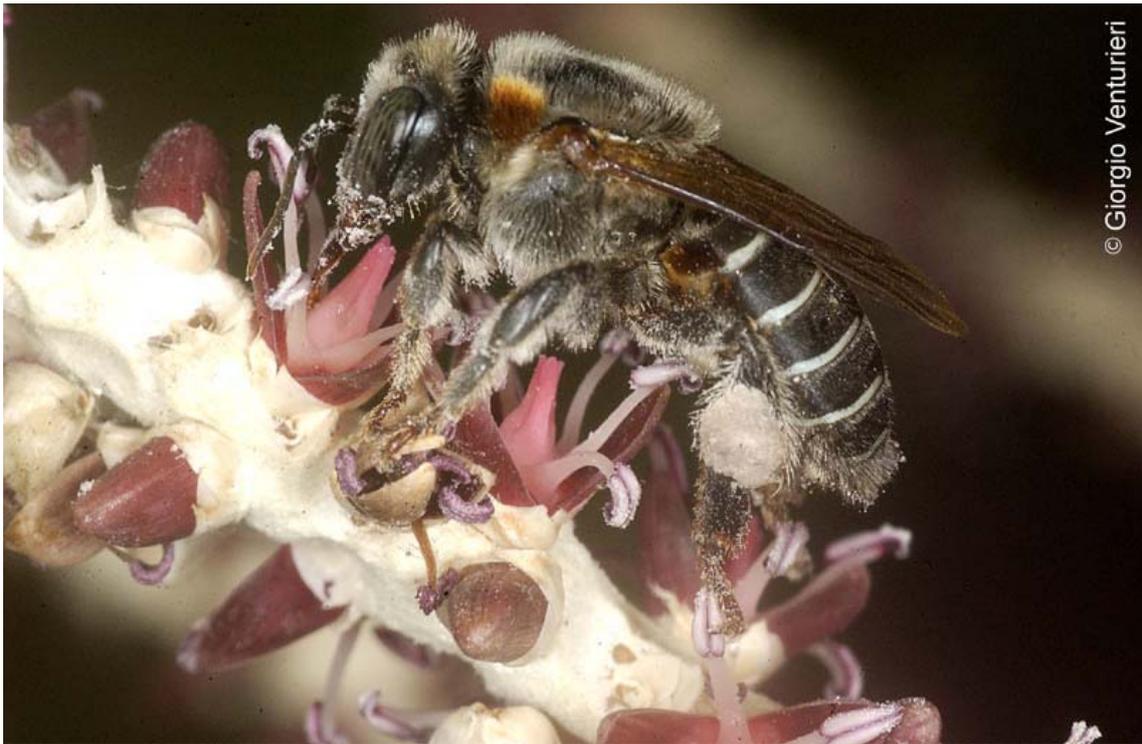


Figura 3. Operária de *Melipona fasciculata* (Uruçu-cinzenta)

2.3. Mel

Entende-se por mel, o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colméia (ANVISA, 2004).

O mel é considerado um fluido viscoso, aromático e doce elaborado por abelhas a partir do néctar e/ou exsudados sacarínicos de plantas, principalmente de origens florais, os quais, depois de levados para a colméia pelas abelhas, são amadurecidos por elas e estocados no favo para sua alimentação (Brasil, 2000).

O mel é uma solução concentrada de açúcares com predominância de glicose e frutose. Contém ainda uma mistura complexa de outros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, substâncias aromáticas, pigmentos e grãos de pólen podendo conter cera de abelhas procedente do processo de extração (ANVISA, 2004).

A utilização do mel na nutrição humana não deveria limitar-se apenas a sua característica adoçante, como excelente substituto do açúcar, mas principalmente por ser um alimento de alta qualidade, rico em energia e inúmeras outras substâncias benéficas ao equilíbrio dos processos biológicos de nosso corpo (Pereira et al., 2003).

Além de sua qualidade como alimento, esse produto único é dotado de inúmeras propriedades terapêuticas, sendo utilizado pela medicina popular sob diversas formas e associações como fitoterápicos (Pereira et al., 2003).

A composição do mel dependente de muitos fatores tais como: espécies colhidas, natureza do solo, espécie de abelhas, estado fisiológico da colônia, estado de maturação do mel, condições meteorológicas, etc. (Crane, 1983; Pamplona, 1994).

O mel pode sofrer alterações de causas diversas. Algumas acontecem devido à falta de informação do próprio agricultor, quanto à tecnologia de extração, a forma de manejo adequado, equipamentos a serem utilizados e principalmente à forma de armazenamento e conservação (Melo, 2003).

É de suma importância o conhecimento da caracterização do mel, para que o produto tenha a garantia da qualidade no mercado, cada vez mais exigente.

2.4. Padrões da Legislação para Méis

A Tabela 1 mostra os padrões da Legislação Brasileira (Brasil, 2000), MERCOSUL (MERCOSUL, 1999) e Codex Alimentarius (CODEX, 2001), para mel de abelha *A. mellifera* e os padrões para futura legislação de méis de meliponíneos proposto por Villas-Bôas e Malaspina (2005), estabelecendo os requisitos mínimos de qualidade que o mel deve possuir

Tabela 1. Legislação Brasileira, Legislação do MERCOSUL, Codex Alimentarius para mel de *Apis mellifera* e Legislação proposta por Villas-Bôas e Malaspina (2005) para méis de meliponíneos.

| Parâmetros | Mel de <i>Apis mellifera</i> | | Codex Alimentarius | Mel de meliponíneo |
|----------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | Legislação Brasileira | Legislação do MERCOSUL | | Villas-Bôas e Malaspina |
| Açúcar Redutor | Mín. 65 g/100 g | Mín. 65 g/100 g | Mín. 60 g/100 g | Mín. 50 g/100 g |
| Sacarose | Máx. 6 g /100 g | Máx. 6 g/100 g | Máx. 5 g/100 g | Máx. 6 g/100 g |
| Umidade | Máx. 20 g/100 g | Máx. 20 g/100 g | Máx. 20 g/100 g | Máx. 35 g/100 g |
| Cinzas (RMF) | Máx. 0,6 g/100 g | --- | --- | Máx. 0,6 g/100 g |
| Acidez | Máx. 50 meq/ kg | Máx. 50 meq/ kg | Máx.50 meq/ kg | Máx. 85 meq/ kg |
| AD | Mín. 8 DN | --- | --- | Mín. 3 DN |
| HMF | Máx. 60 mg/ kg | Máx. 60 mg/ kg | Máx. 80 mg/ kg | Máx. 40 mg/ kg |
| Cor | Branco d'água a Âmbar escuro |

2.5. Caracterização Química do Mel

2.5.1. Viscosidade

A viscosidade do mel depende grandemente do seu conteúdo de água e conseqüentemente, da densidade relativa do mel, o que significa que quanto menor for a quantidade de água presente no mel, maior será a densidade relativa e a viscosidade deste mel. A viscosidade sofre também, a influência da temperatura, onde durante o aquecimento pode alcançar o máximo de fluidez (38°C), diminuindo lentamente até estabilizar entre 48°C a 50°C (Crane, 1985; Gil, 1980).

2.5.2. pH

O pH determinado no mel refere-se aos íons hidrogênio presente em uma solução e pode influenciar na formação de outros componentes, como na velocidade de produção do hidroximetilfurfural (Vidal & 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 das cinzas (Seemann & Neira, 1988; Frias & Hardissom, 1992).

2.5.3. Acidez

Os ácidos do mel se encontram em todas as flores, e todos os méis apresentam reações ácidas com pH médio = 3,9, devido à presença de ácidos orgânicos (alguns voláteis), ácidos inorgânicos (ácido clorídrico e ácido fosfórico) e outros. Entre os mais freqüentes pode-se mencionar o ácido málico, cítrico e o acético, sendo que o mais importante é o ácido glucônico que se forma da glicose por ação enzimática (Gil, 1980; Crane, 1985).

2.5.4. Umidade

O conteúdo de água no mel é uma das características mais importantes, influenciando diretamente na viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor, conservação, palatabilidade, solubilidade e valor comercial.

A água está diretamente relacionada com a origem floral, localização geográfica, condições climáticas (temperatura e umidade) e edáficas (solos), estação do ano, umidade original do néctar e o grau de maturação na colméia (González, 2002; Carvalho et al., 2003).

Em condições especiais de níveis elevados de umidade, o mel pode fermentar pela ação de leveduras osmofílicas (tolerantes ao açúcar) presentes também em sua composição. Segundo Crane (1987), a maior possibilidade de fermentação do mel está ligada ao maior teor de umidade e leveduras produzindo álcool. O hidromel é o produto desta fermentação isenta de oxigênio livre utilizando microorganismos selecionados.

2.5.5. Resíduo Mineral Fixo (RMF)

O Resíduo mineral fixo (RMF) constitui principalmente os sais de cálcio, sódio, potássio, magnésio, ferro, cloro, fósforo, enxofre e iodo (Nogueira et al., 1984).

Segundo Gil, os méis escuros têm uma riqueza superior em minerais aos de caráter mais claros a quantidade de cinza total varia de 0,02 a 0,6% no mel (Gil, 1980).

O parâmetro RMF pode determinar algumas irregularidades no mel, como a ausência de etapas no processo de retirada do mel pelo apicultor (decantação, filtração) e a falta de higiene (Melo, 2003).

Este método se baseia no princípio de que toda substância orgânica submetida à alta temperatura se decompõem em gases, os quais se dissipam na atmosfera (Rodrigues et al., 2002).

2.5.6. Sólidos Solúveis

Os sólidos solúveis no mel são definidos como a medida da concentração de sólidos dissolvidos em uma solução, como os açúcares e ácidos (Coulter, 2004). Os valores para este parâmetro são altos, principalmente em mel, visto que este possui elevado valor de açúcares e acidez.

2.5.7. Cristalização

A cristalização do mel é uma das garantias de sua pureza. A cristalização não modifica suas propriedades, podendo o mel ser ingerido mesmo cristalizado. Suas vitaminas e enzimas permanecem intactas (SANZ et al., 2002).

A cristalização do mel se deve à proporção glicose/ água. Os mais ricos em glicose cristalizam mais rapidamente. A glicose, por ser instável, apresenta tendência de separar-se do resto da solução e formar cristais monohidratados, com mudança de número, forma, dimensão e qualidade de acordo com a composição do mel e forma de estocagem. Dependendo da quantidade de água que o mel apresenta, essa cristalização é mais ou menos rápida. A alta capacidade higroscópica é atribuída à frutose existente no mel, portanto quanto maior for a concentração deste açúcar, mais difícil será sua cristalização (Faria, 1983; Krell, 1996; Fonseca & Kleinert, 2004).

A temperatura é um fator que contribui para a cristalização. Entre 10° e 20°C a cristalização é mais rápida, tornando-se mais lenta acima dos 27°C e em temperaturas mais baixas e constantes (Nogueira et al., 1984).

O processo de cristalização também ocorre da presença ou ausência de partículas diminutas em suspensão (bolhas de ar, partículas de cera, grãos de pólen e sujeira), que podem servir como núcleo para crescimento de cristal (Crane, 1985).

2.5.8. Açúcares

Os principais componentes do mel são os açúcares, sendo que os monossacarídeos frutose e glicose representam 80% da quantidade total (White, 1975). Entretanto os dissacarídeos sacarose e maltose somam 10% (White & Siciliano, 1980) encontraram em alguns tipos de mel, açúcares incomuns como a isomaltose, nigerose, leucarose e turanose (White, 1967).

A alta concentração de diferentes tipos de açúcar é responsável pelas diversas propriedades físicas do mel, tais como: viscosidade, densidade, higroscopicidade, capacidade de granulação (cristalização) e valores calóricos (Campos, 1987).

2.5.9. Proteína

Acredita-se que a proteína é originária na sua maior parte das abelhas que as produzem e incorporam ao mel na forma de enzimas, quando da passagem do néctar pelo aparelho digestivo do inseto. Além disso, pode ser originária do pólen recolhido pelas abelhas quando coleta o néctar.

Apesar do pouco conhecimento sobre as características do material protéico, a ocorrência de proteína em mel é utilizada na detecção de adulteração do produto

comercial (Crane, 1975). A detecção de adulteração é feita com o emprego dos isótopos estáveis de carbono, onde a proteína é o padrão interno, segundo Arauco (2000), quando as diferenças negativas forem maiores que 1% entre a proteína e o mel, a amostra deve ser considerada adulterada. Dentre os aminoácidos encontrados no mel, a prolina é o que está presente em maior quantidade, representando cerca de 50-85% do total.

2.5.10. Enzimas

As enzimas também são responsáveis por transformações nas suas características físico-químicas e nutricionais durante o armazenamento. O mel, no seu processo de formação, contém enzimas próprias das plantas e dos insetos.

Segundo Crane (1987), a adição de enzimas, pelas abelhas, ao néctar causa mudanças químicas que irão aumentar a quantidade de açúcar (transformação de néctar em mel), o que não seria possível sem essa ação enzimática. As enzimas mais importantes do mel são: a invertase, a diastase (amilase) e a glicose oxidase (Crane, 1985).

A enzima invertase, incorporada ao néctar pela saliva das abelhas transforma 3/4 da sacarose inicial do néctar coletado, nos açúcares invertidos glicose e frutose, ao mesmo tempo em que açúcares superiores são sintetizados, não estando presente no material vegetal original. Sua ação é contínua até que o "amadurecimento" total do mel ocorra (Pereira et al., 2003). Dessa forma, pode-se definir o amadurecimento do mel como a inversão da sacarose do néctar pela enzima invertase e sua simultânea mudança de concentração.

A enzima invertase irá permanecer no mel conservando sua atividade por algum tempo, a menos que seja inativada pelo aquecimento, sendo que o conteúdo da sacarose do mel nunca chega à zero. Essa inversão de sacarose em glicose e frutose produz uma solução mais concentrada de açúcares, aumentando a resistência desse material à deterioração por fermentação e promovendo assim o armazenamento de um alimento altamente energético em um espaço mínimo (Pereira et al., 2003).

A glicose-oxidase, que em soluções diluídas é mais ativa (White, 1975), reage com a glicose formando ácido glucônico (principal composto ácido do mel) e peróxido de hidrogênio, esse último capaz de proteger o mel contra a decomposição bacteriana até que seu conteúdo de açúcares esteja alto o suficiente para fazê-lo (Schepartz et al., 1966; Mendes & Coelho, 1983).

2.5.11. Atividade Diastásica

Acredita-se que a diastase seja proveniente do papo da abelha (Ammon, 1949; Rinaudo, 1973), e adicionada ao mel durante sua manipulação, quando a abelha concentra o néctar coletado, convertendo-o em mel.

A diastase quebra o amido, sendo sua função na fisiologia da abelha ainda não claramente compreendida, podendo estar envolvida com a digestão do pólen. Como a diastase apresenta alto grau de instabilidade em frente às temperaturas elevadas, sua presença ou não se faz importante na tentativa de detectar possíveis aquecimentos do mel comercialmente vendido, apesar de que também em temperaturas ambientes ela pode vir a deteriorar-se quando o armazenamento for prolongado (Pereira et al., 2003).

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. A ocorrência de grandes diferenças quantitativas dessa enzima em méis de diferentes origens florais sugere possíveis efeitos qualitativos do mel na atividade desta enzima, ou a presença de substâncias naturais no mel, que causam interferência na metodologia em uso.

2.5.12. Hidroximetilfurfural (HMF)

O hidroximetilfurfural é um aldeído cíclico que se origina majoritariamente por desidratação da frutose em meio ácido, processo que está intimamente ligado ao grau de envelhecimento ou ao processamento que envolve o aumento de temperatura (González, 2000). Este método dá suporte à verificação do superaquecimento, estocagem inadequada e adulteração com açúcar comercial (xarope de milho, de beterraba) tendo o mel, portanto, valor nutricional alterado e poderá ocorrer perda de alguma enzima, como a glicose oxidase (Melo, 2003). O método recomendado pela legislação é um método quantitativo, onde se utiliza um espectrofotômetro nos comprimentos de onda entre 284 e 336nm (Brasil, 2000).

2.5.13. Cor

A cor é um importante parâmetro por influenciar na preferência do consumidor, que na maioria das vezes, escolhe o produto apenas pela aparência. Tal é a relevância

deste parâmetro que o International Trade Forum (1977) considerou a cor como uma das características do mel que tem particular importância no mercado internacional.

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

Segundo Bath & Singh (1999), a proporção de frutose, glicose, conteúdo de nitrogênio e aminoácidos livres, a reação de substâncias polifenólicas como sais de ferro, o conteúdo de minerais e a instabilidade da frutose em solução ácida, são fatores que determinam a velocidade do escurecimento do mel.

Os méis variam em cor desde tonalidades praticamente incolores a tonalidades escuras, sendo que esta diferença não é parâmetro indicador de qualidade apesar de que no mercado mundial o mel é avaliado por sua cor, e méis claros alcançam preços maiores que os escuros. Suas cores podem ser classificadas em: branco d'água, extra branca, branco, branco âmbar claro, âmbar claro, âmbar e âmbar escuro (González, 2002; Crane, 1985; Nogueira et al., 1984).

O armazenamento prolongado, a luz, as possíveis reações enzimáticas, aquecimento e o processo de colheita podem escurecer o mel (Crane, 1985).

Esta mudança de coloração pode ser proveniente de um efeito acumulativo do aquecimento de pasteurização, ou quando a temperatura ambiente de estocagem for relativamente alta. A temperatura atua acelerando as reações químicas dando origem a pigmentos de cor vermelha (Faria, 1983).

2.5.14. Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico, vitamina C, é uma vitamina hidrossolúvel que possui propriedades ácidas e redutoras. Estas características se devem a sua estrutura que está conjugada com um grupo carbonila em anel de lactona (Tannebaum, 1982).

Pode se apresentar em sua forma de ácido L-ascórbico ou em sua forma oxidada, o ácido dehidro L-ascórbico (ADHA), com a mesma atividade vitamínica. Os méis possuem baixo teor de ácido ascórbico (Wong, 1994).

O ácido ascórbico é suscetível à degradação devido a diferentes fatores: influência da temperatura, oxigênio, concentração de sal e açúcar, pH, enzimas, catalisadores metálicos, aminoácidos, oxidantes ou redutores, dessecação e armazenamento (Pontes, não publicado).

2.5.15. Polifenóis Totais

Os compostos polifenólicos são um numeroso grupo de substâncias que incluem família de compostos com estruturas diversas, desde algumas relativamente simples, como os derivados de ácidos fenólicos aos de molécula polimérica de alto peso molecular como os taninos e as ligninas. Muitos compostos fenólicos têm propriedades captadoras de radicais livres, o que confere a atividade antioxidante que poderia estar relacionada com a prevenção de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer. Também apresentam atividade antiviral, antiinflamatória e antialérgica (Bravo et al., 1994; Middleton & Kandaswami, 1994; Rhodes, 1994; Robards et al., 1999; Martín-Carrón, 2000; Parr & Bolwell, 2000).

A ação antioxidante dos polifenóis pode ser devido a uma combinação de várias etapas químicas, as quais incluem inibição enzimática, quelação metálica e doação de hidrogênio. As estruturas polifenólicas podem interagir fortemente com proteínas mediante seu anel benzênico hidrofóbico e o potencial do hidrogênio do grupo fenólico hidroxílico (Parr & Bolwell, 2000).

Antioxidantes fenólicos funcionam como seqüestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais (Shahidi et al., 1992), agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários, formados pela ação destes antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (Nawar, 1985). Os compostos fenólicos e alguns de seus derivados são, portanto, eficazes para prevenir a oxidação lipídica; entretanto, poucos são os permitidos para o uso em alimentos, devido principalmente a sua toxicidade (Shahidi et al., 1992).

2.5.15.1. Ácidos Fenólicos

Os ácidos fenólicos são algumas das substâncias que constituem o grupo dos compostos fenólicos. Caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes tanto para os alimentos como para o organismo, sendo, por isso, indicadas para o tratamento e prevenção do câncer, doenças cardiovasculares e outras doenças (Kerry & Abbey, 1997; Bravo, 1998; Ferguson & Harris, 1999). Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até outras

com alto grau de polimerização (Bravo, 1998), que estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas.

Os ácidos fenólicos são divididos em três grupos. O primeiro é composto pelos ácidos benzóicos, que possuem sete átomos de carbono (C6-C1) e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza; suas fórmulas gerais e denominações estão representadas na Figura 4.

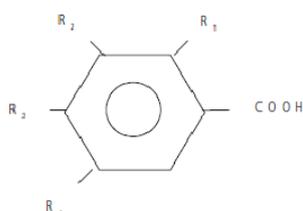
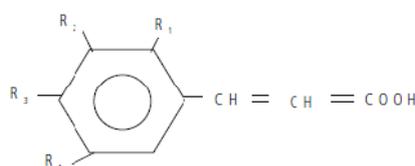


Figura 4. Estrutura química dos ácidos benzóicos

R1 = OH → Ácido Salicílico; R1 = R4 = OH → Ácido Gentísico; R3 = OH → Ácido p-hidroxibenzóico; R2 = R3 = OH → Ácido Protocatequínico; R2 = OCH3; R3 = OH → Ácido Vanílico; R2 = R3 = R4 = OH → Ácido Gálico; R2 = R4 = OCH3; R3 = OH → Ácido Siríngico

O segundo (Figura 5) é formado pelos ácidos cinâmicos, que possuem nove átomos de carbono (C6-C3), sendo sete os mais comumente encontrados no reino vegetal.



R1 = R2 = R3 = R4 = H → Ácido cinâmico; R1 = OH → Ácido o-cumárico; R2 = OH → Ácido m-cumárico; R3 = OH → Ácido p-cumárico; R2 = R3 = OH → Ácido Caféico; R2 = OCH3; R3 = OH → Ácido ferúlico; R2 = R4 = OCH3; R3 = OH → Ácido Sinápico.

Figura 5. Estrutura química dos principais ácidos cinâmicos

As cumarinas (Figura 6) são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido *o*-cumárico.

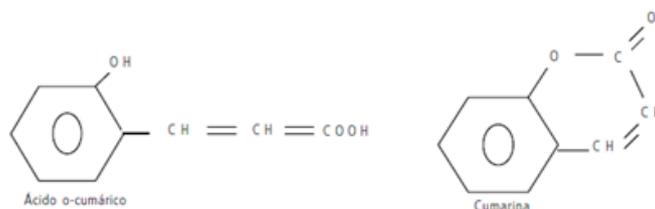


Figura 6. Estrutura química das cumarinas

Os ácidos fenólicos, além de se apresentarem sob sua forma natural, podem também se ligar entre si ou com outros compostos. A combinação mais importante destes ácidos ocorre com o ácido caféico, o qual, associado a um álcool-ácido cíclico, denominado ácido quínico, origina o ácido clorogênico.

2.5.15.2. Flavonóides

Os flavonóides (Figura 7) possuem uma estrutura básica formada por C6-C3-C6, sendo os compostos mais diversificados do reino vegetal. Neste grupo encontram-se as antocianidinas, flavonas, flavonóis e, com menor frequência, as auronas, calconas e isoflavonas, dependendo do lugar, número e combinação dos grupamentos participantes da molécula.

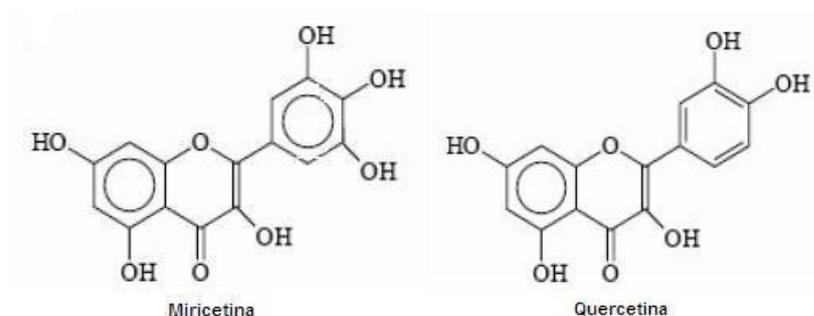


Figura 7. Estrutura química dos flavonóides miricetina e quercetina

2.5.16. Cromatografia Líquida (HPLC)

A cromatografia é conceituada como um método físico-químico de separação, em que os constituintes de uma determinada amostra são particionados nas fases imiscíveis: estacionária (líquido ou sólido) e móvel (líquido ou gás). A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação. (Ciola, 2003).

O grande avanço na cromatografia em coluna foi o desenvolvimento e a utilização de suportes com partículas diminutas responsáveis pela alta eficiência (HPLC), as quais tornam necessário o uso de bombas de alta pressão para a eluição da fase móvel, devido a sua baixa permeabilidade. A versatilidade desta técnica reside no grande número de fases estacionárias existentes, as quais possibilitam análises e separações de uma ampla gama de compostos com alta eficiência (Degani et al., 1998).

A HPLC (do inglês- High Pressure Liquid Chromatography) é uma técnica de ultra-microanálise podendo quantificar massas de componentes inferiores a 10^{-18} g que dependerá da substância e do detector empregado (Ciola, 2003).

2.5.17. Atividade Antioxidante

O mel é um alimento que possui uma enorme quantidade de nutrientes indispensáveis para a vida como sais minerais, açúcares, etc. Hoje em dia, vários estudos epidemiológicos estão relacionados com a ingestão de uma dieta rica em alimentos que possuem as características do mel como as de origem vegetal, com menores predisposições para doenças degenerativas e cardiovasculares (Steinmetz & Potter, 1996; Stewart et al., 1996; Tibble, 1996; Slaterry et al., 2000).

A atividade antioxidante possui a capacidade de interferir na ação oxidativa dos radicais livres, tais como os radicais de oxigênio (superóxido, hidroxila, peroxila, oxigênio singleto), nitrogênio e radicais orgânicos (hidroperóxidos lipídicos, etc.) (Stewart et al., 1996).

Os constituintes que estão relacionados a esta atividade protetora destacam-se os carotenóides, os polifenóis e vitamina C (ácido ascórbico).

Os antioxidantes são capazes de inibir a oxidação de diversos substratos, de moléculas simples a polímeros e biosistemas complexos, por meio de dois mecanismos: o primeiro envolve a inibição da formação de radicais livres que possibilitam a etapa de iniciação; o segundo abrange a eliminação de radicais importantes na etapa de propagação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (Namiki, 1990; Simic & Javanovic, 1994).

2.5.18. Análise Estatística Multivariada

Os métodos estatísticos multivariados consideram as amostras e as variáveis em seu conjunto, permitindo extrair informações complementares que a análise univariada não consegue evidenciar. Um dos objetivos na utilização da análise multivariada é reduzir a representação dimensional dos dados, organizando-os em uma estrutura que facilita a visualização de todo o conjunto de dados (Moura et al., 2006).

As duas técnicas de análise multivariada mais conhecidas são as análises de agrupamento hierárquico (HCA) e a análise de componentes principais (PCA). A PCA e a HCA são metodologias exploratórias que visam evidenciar similaridades ou diferenças entre amostras em um determinado conjunto de dados. Desse modo, tornam-se perfeitamente aplicáveis em experimentos de rastreabilidade (Sousa, et al., 2006).

A análise de componentes principais (PCA) é um método de análise multivariada utilizado para projetar dados n-dimensionais em um espaço de menor dimensão, ou seja as informações contidas no espaço de dimensão n são comprimidas por combinações lineares das variáveis originais a um espaço geralmente de ordem 2 ou 3 (Ferreira, et al., 2002). A PCA é um método exploratório porque auxilia na elaboração de hipóteses gerais a partir dos dados coletados. Em uma análise de componentes principais, o agrupamento das amostras define a estrutura dos dados pela construção gráficos de scores e loadings, cujos eixos são componentes principais (PCs) nos quais os dados são projetados (Panero & Silva, 2008; Correia & Ferreira, 2007). Os scores fornecem a composição das PCs em relação as amostras, enquanto os loadings fornecem essa mesma composição em relação às variáveis. O estudo conjunto de scores e loadings permite ainda estimar a influência de cada variável em cada amostra (Panero et al., 2006).

A análise de agrupamento hierárquico (HCA) é um processo hierárquico no qual, em cada passo a matriz de dados é diminuída em uma dimensão, pela reunião de pares semelhantes, até a reunião de todos os pontos em um único grupo (Panero & Silva, 2008; Correia & Ferreira, 2007). O objetivo da HCA é exibir os dados em um espaço bidimensional de maneira a enfatizar os seus agrupamentos e padrões naturais. A distância entre os pontos (amostras ou variáveis) reflete a similaridade de suas propriedades, sendo útil para determinar a semelhança entre amostras. O método relaciona as amostras de forma que as mais semelhantes são agrupadas entre si. Os resultados são apresentados na forma de um dendrograma que agrupa amostras ou variáveis em função da similaridade (Panero et al., 2006; Sharaf & Kowalski, 1986).

3. METODOLOGIA

3.1. Obtenção das Amostras

Foram utilizados méis de abelhas *M. flavolineata* (uruçu-amarela), *M. fasciculata* (uruçu-cinzenta) e de *A. mellifera* (africanizada), colhidos de setembro a dezembro de 2008, provenientes de municípios do nordeste do Estado do Pará.

As amostras foram coletadas de colméias racionais (Figura 8) conforme modelo recomendado pela Embrapa (Venturieri, 2004). Este sistema de criação em caixas racionais facilita a coleta do mel, tornando-a mais rápida, higiênica e causando poucos distúrbios à colônia (Venturieri et al., 2007).

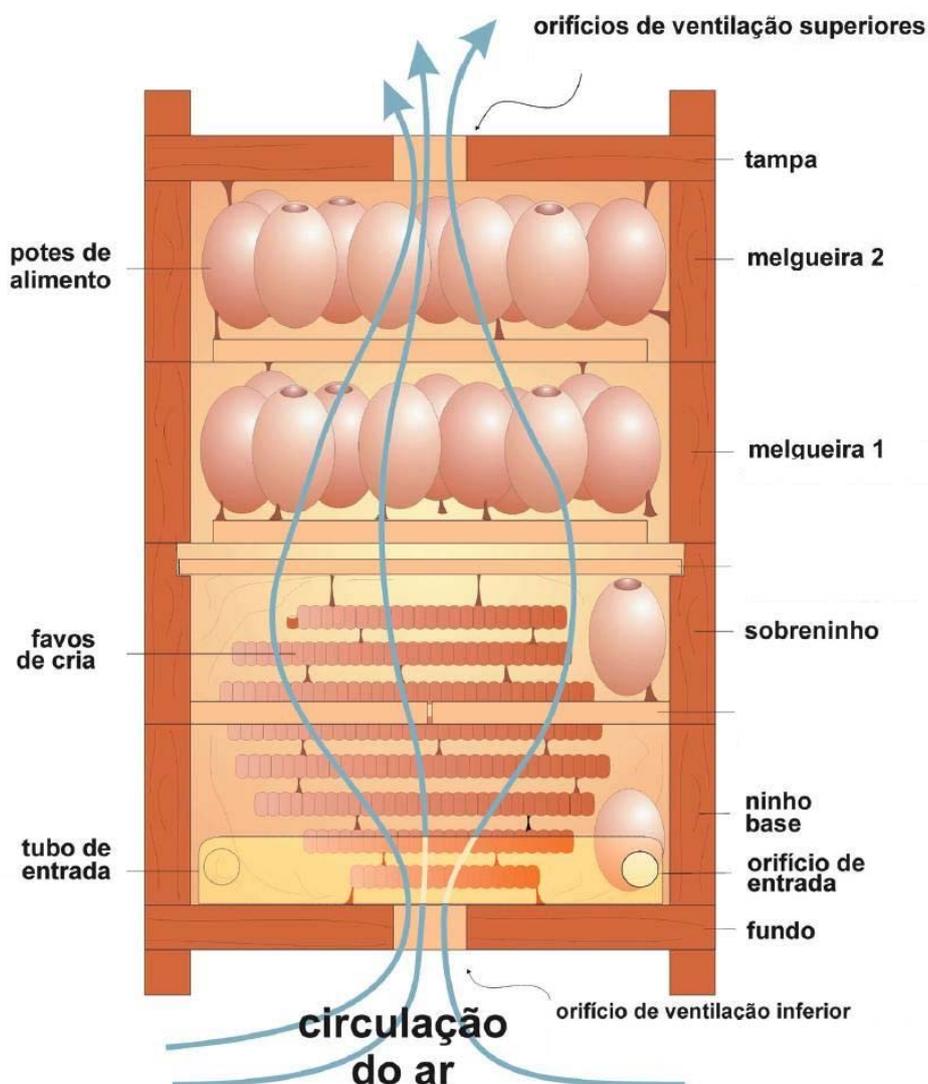


Figura 8. Vista interna de caixa racional para criação de abelhas indígenas sem ferrão (Venturieri, 2004).

Os méis foram coletados de potes fechados, com o auxílio de seringas e potes de vidro de 500 mL previamente esterilizados (Figura 9).

As amostras foram transferidas para frascos plásticos, ou de vidros, esterilizados de 500 mL. Após a coleta dos méis, sempre que possível, as amostras foram mantidas sob refrigeração em geladeira doméstica (aproximadamente 4°C), até o momento das análises.



Figura 9. Coleta de mel em caixa racional

3.2. Locais de estudo

As amostras de mel foram coletadas de municípios da mesorregião do nordeste paraense (Figura 10). Esta região apresenta grande diversidade de solo e espécies botânicas, com a presença de campos aluviais flúvio-marinhos, vegetação de mangue e floresta secundária (capoeiras em vários estágios), os municípios do estudo foram estão nas microrregiões Bragantina (Tracuateua e Nova Timboteua), do Salgado (São João de Pirabas e Vigia) e Guamá(São Miguel do Guamá).



Figura 10. Mapa da mesorregião do nordeste paraense; FONTE: Google Earth.

Segundo Venturieri (2008), esta região apresenta diferentes gradientes de vegetação secundária e áreas agrícolas, especialmente ocupadas por culturas agrícolas de subsistência. Devido ao crescente aumento das taxas de desmatamento na Amazônia, diversos setores da sociedade civil e do governo brasileiro têm se preocupado com a busca de alternativas para o desmatamento e o conseqüente uso sustentável de recursos naturais amazônicos.

A meliponicultura mostra-se como uma excelente alternativa podendo enquadrar-se perfeitamente nos preceitos de uso sustentável dos recursos naturais, sem necessidade de remoção da cobertura vegetal nativa.

3.3. Procedimentos Analíticos

As análises foram realizadas em triplicata a cada coleta, para a avaliação das características físico-químicas, perfil cromatográfico e o estudo da atividade antioxidante dos méis dessas espécies sem prévio tratamento.

3.3.1. pH

Foi realizado com auxílio de pHmetro digital QUIMIS, modelo SC09, seguindo a metodologia de Brasil (2000).

3.3.2. Acidez Total

A acidez livre foi determinada de acordo com o método nº 962.19 da A.O.A.C (1997), que se baseia na titulação de 5 g amostra, com solução de NaOH 0,1N, até atingir o pH = 8,3 utilizando pHmetro digital QUIMIS, modelo SC09, cujo método é recomendado pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (Brasil, 2000).

3.3.3. Umidade

A umidade dos méis foi determinada por refratometria, segundo o Método nº. 969.38b (A.O.A.C, 1997) recomendado como metodologia oficial do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (Brasil, 2000). O princípio deste método consiste na determinação do índice de refração do mel a 20 °C, que é convertido para o conteúdo de umidade através de uma tabela de referência a qual, por sua vez, fornece a concentração como uma função do índice de refração.

3.3.4. Resíduo Mineral Fixo

Da incineração de 2 g das amostras em mufla aquecida a 600 °C por 5h, determinou-se a quantidade de cinzas nos méis (C.A.C, 1990), conforme método recomendado pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento (Brasil, 2000).

3.3.5. Sólidos Solúveis

O método utilizado foi por refratometria a 20 °C, onde 1 gota do mel foi colocada no prisma do refratômetro manual ATAGO modelo 9419 e feita a leitura, conforme recomendado pelo ministério da agricultura (Brasil, 2000).

3.3.6. Açúcares Redutores

Foi preparada uma solução de mel a 20% retirou-se alíquota de 2 mL e aferiu-se pra 100 mL, com água destilada. Esta solução foi titulada contendo 5 mL de solução de Fehling A (34,65 g de sulfato de cobre para preparo de 500 ml de solução), 5 mL de solução de Fehling B (173 g de sal de Rochelle (tartarato de sódio e potássio) + 125 g de KOH em água até 500 mL.), 20 mL de água e uma gota de solução de azul de metileno a 1% como indicador utilizando determinador de açúcares redutores, modelo TE-0861, segundo Instituto Adolfo Lutz (1985), adaptado por Ozela (2001).

3.3.7. Açúcares Totais

Foi preparada uma solução de mel a 20% retirou-se alíquota de 2 mL em balão de 100 mL adicionou-se 40 mL de água destilada e 1 mL de HCl concentrado (12 mol/L). Esta solução foi colocada em banho-maria por 25 minutos, neutralizou-se a solução com carbonato de sódio e aferiu-se com água destilada. Esta solução foi titulada contendo 5 mL de solução de Fehling A (34,65 g de sulfato de cobre para preparo de 500 ml de solução), 5 mL de solução de Fehling B (173 g de sal de Rochelle (tartarato de sódio e potássio) + 125 g de KOH em água até 500 ml.), 20 mL de água e uma gota de solução 1% de azul de metileno como indicador utilizando determinador de açúcares redutores, modelo TE-0861, segundo Instituto Adolfo Lutz, (1985), adaptado por Ozela (2001).

3.3.8. Sacarose

O teor de sacarose foi calculado através da seguinte equação: % de sacarose = (% A.T- % A.R) . 0,95, segundo Instituto Adolfo Lutz, (1985), adaptado por Ozela (2001). Onde: A.T- açúcares totais; A.R- açúcares redutores.

3.3.9. Proteína

Segundo o método nº. 920.152 da A.O.A.C. (1997), determinou-se o teor de proteína em méis. Pesou-se aproximadamente 0,2 g da amostra no tubo. Adicionou-se 2 g de catalisador (200 g sulfato de potássio e 20 g sulfato de cobre) e 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Colocou-se para digerir primeiramente a 100 °C/ 2h e aumentou-se 50 °C a cada meia hora até alcançar a temperatura de 350 °C. A amostra foi digerida em 350 °C até o clareamento do conteúdo. O tubo esfriou e adicionaram-se 10 ml de água destilada. Destilou-se em Destilador TECNAL, modelo TE-036/1, adicionando cerca de 18 ml de NaOH (50%) e recebendo o destilado em um erlenmeyer contendo 25 ml de ácido bórico 2% e indicador. Titulou-se a solução com HCl 0,02N até uma coloração laranja-avermelhada.

3.3.10. Atividade Diastásica

Foi determinada pelo método de Shade e modificado por Whitee Hadon, segundo C.A.C (1990), cujo resultado foi expresso em mL de solução de amido a 1% hidrolisado pela enzima em 1 g de mel, em 1 h. Este método é recomendado também pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000).

Para a padronização do amido foi pipetado 5 mL de solução de amido (8,8 g de iodo ressublimado, 22 g de iodeto de potássio e 100 mL de água) para um frasco contendo 10 mL de água. Desta solução, foi retirado 1 mL e colocado em erlenmeyer contendo 10 mL de solução iodo padrão 0,0007N (20 g de iodeto de potássio + 5 mL de solução de amido + 500 ml de água). Misturou-se e determinou-se o volume de água necessário para a diluição padrão da preparação do amido, para se obter uma leitura de absorvância de 0,760 a 660 nm.

Determinação: foi pesado 10 g de mel e adicionado 5 ml de solução tampão de acetato (87 g de acetato de sódio tri-hidratado + 10,5 ml de ácido acético + 500 mL de água) e 20 mL de água destilada, dissolveu-se a frio e obteve-se a solução A. em balão

de 50 mL, foi adicionado 3 mL de cloreto de sódio 0,5M e a solução A, aferiu-se com água destilada e originou-se a solução B. Pipetou-se 10 mL da solução B para um tubo de ensaio que foi colocado em banho-maria a 40 °C +/- 2 °C, junto com um frasco de solução de amido. Após 15 minutos pipetou-se 5 mL da solução de amido para a solução de mel, agitou-se e ligou-se o cronômetro. Em intervalos de 5 minutos, alíquotas de 1 mL foram removidas e adicionadas em frascos graduados, juntamente com 10 mL de solução de iodo 0,0007N. Misturou-se com o volume de água determinado na padronização do amido. A absorbância foi lida a 660 nm e anotou-se o tempo decorrido até obter um valor de absorbância menor que 0,235.

3.3.11. Hidroximetilfurfural

Foi determinado através do método quantitativo, que consiste na verificação do HMF, utilizando-se método espectrofotométrico a 284 e 336 nm, conforme o método nº. 980.23 (AOAC, 1997) recomendado pela Instrução Normativa do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (Brasil, 2000). Pesou-se 5 g da amostra e adicionou-se 25 mL de água e transferiu-se para balão volumétrico de 50 mL. Posteriormente foi adicionado 0,5 mL de solução de Carrez 1 (15 g $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3 H_2O$ + 100 mL de H_2O) e 0,5 mL de solução de Carrez 2 (30 g de $Zn(OAc)_2 \cdot 2 H_2O$ + 100 mL de H_2O) e misturou-se. A amostra foi filtrada e os primeiros 10 mL descartados. Pipetou-se 5 mL do filtrado em dois tubos de ensaio. No primeiro tubo adicionou-se 5 mL de água e no segundo 5 mL de bissulfito de sódio (0,2%), como referência. Foi medida a absorbância da amostra, utilizando espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 284 e 336 nm.

3.3.12. Cor

A classificação de cor dos méis foi realizada em espectrofotômetro SHIMADZU modelo UV-160A a 560 nm em célula de 1 cm e usando-se como branco, a glicerina pura (Vidal & Fregosi, 1984). Os dados obtidos no espectrofotômetro foram transformados em cor usando-se a Escala de Cores de Pfund (Tabela 2).

Tabela 2. Escala de Pfund

| <i>Coloração</i> | <i>Absorbância</i> |
|-------------------|--------------------|
| Branco d'água | Até de 0,030 |
| Extra branco | Mais 0,030 a 0,060 |
| Branco | Mais 0,060 a 0,120 |
| Extra âmbar claro | Mais 0,120 a 0,188 |
| Âmbar claro | Mais 0,188 a 0,440 |
| Âmbar | Mais 0,440 a 0,945 |
| Âmbar escuro | Mais de 0,945 |

3.3.13. Ácido Ascórbico

Foi determinada através do método proposto por Strohecker & Henning para quantificação de vitaminas e utilizado por Brasil (2000) para polpas de fruta.

Para a padronização da solução Tillman tomou-se 5 ml da solução de AA (50 µg/ ml) em Erlenmeyer de 125 ml e completou-se até aproximadamente 50 ml com água destilada, e logo após titulou-se com a solução de Tillman, até o ponto de viragem, róseo claro persistente por 15 segundos. Para a determinação de ácido ascórbico na amostra, tomou-se 25 ml da solução de mel a 20%, em Erlenmeyer de 125 ml, e completou-se até 50 ml, em seguida foi titulado com solução de Tillman (DFI - 2,6 diclorofenolindofenol 0,2%), até o ponto de viragem.

3.3.14. Polifenóis Totais

O índice de polifenóis totais foi determinado pelo método de Folin & Ciocalteu modificado por Singleton & Rossi, 1965, no qual a mistura dos ácidos fosfowolfrâmico e fosfomolibdico em meio básico se reduz ao oxidar os compostos fenólicos, originando óxidos azuis de wolframio (W_8O_{23}) e molibdeno (Mo_8O_{23}). 125 µL de reagente fenólico de Folin-Ciocalteu 1 N foi adicionado em 625 µL da amostra, previamente diluída em solução de metanol 20%. Finalmente, 250 µL de solução de Na_2CO_3 (75 g/ L) foram adicionados. A leitura foi após 30 min. a 735 nm. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico em 100 g de mel.

3.3.15. Isolamento de marcadores químicos por HPLC-UV

Para determinação do perfil dos flavonóides e ácidos fenólicos, foi feita comparação direta do perfil cromatográfico fenólico, obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - Varian). Todos os padrões e as amostras foram analisados utilizando detector UV-vis (Varian) em comprimento de onda de 290 nm.

3.3.15.1. Padrões

Os padrões utilizados neste trabalho foram os **ácidos fenólicos**: ácido gálico (3,4,5-trihidroxibenzóico), ácido cafeico, ácido ferulico (ácido 4-hidroxi-3-metoxicinâmico), ácido o-cumárico (ácido 2-hidroxicinâmico), m-cumárico (ácido 3-hidroxicinâmico) e p-cumárico (ácido 4- hidroxicinâmico), ácido o-metoxicinâmico (ácido 2-metoxicinâmico), ácido trans-cinâmico e ácido vanílico (ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzóico) e os **flavonóides**: quercetina (3,3,4,5,7-pentahidroxi-flavona) e miricetina ((3,3,4,5,5,7-hexahidroxi-flavona), pois já são considerados possíveis marcadores químicos e alguns deles com propriedades antioxidantes. Esses padrões foram preparados com metanol em grau espectroscópico (Merk) como padrões individuais e como misturas.

3.3.15.2. Extração de compostos fenólicos em méis usando SPE

Para a identificação de ácidos fenólicos e flavonóides no mel a remoção preliminar de açúcares deve ser executada. Para o isolamento dos compostos fenólicos foi feito um estudo preliminar. Michalkiewicz et al. (2008) compararam a recuperação de ácidos fenólicos e flavonóides em cartuchos SPE com três adsorventes diferentes (Figura 11). A escolha do adsorvente Strata X foi feita por ser bom adsorvente tanto na recuperação de ácidos fenólicos quanto na recuperação de flavonóides.

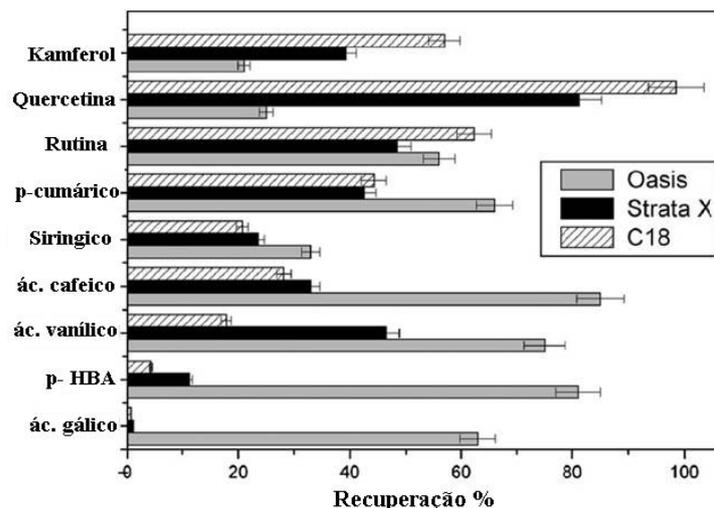


Figura 11 Teste de recuperação de compostos fenólicos em diferentes adsorventes Michalkiewicz et al. (2008)

A extração dos ácidos fenólicos foi feita de acordo com o método descrito por Michalkiewicz e colaboradores (2008).

De acordo com a Figura 12, cerca de 20 g de mel foi misturado em 50 ml de água ultra pura, ajustada a pH = 2,0 com HCl 12 mol/ L concentrado. A amostra fluida foi filtrada em algodão para eliminação de partículas em suspensão. O filtrado foi passado em SPE (Stracta-X). A fração fenólica adsorvida foi então eluída com metanol grau HPLC (50 mL). Após a obtenção do extrato metanólico, este foi concentrado em rotavapor até volume de 5 mL a 40 °C, o concentrado foi filtrado em membrana 0,45 µm (phenomenex) e condicionado em endopds na geladeira até o momento da análise.

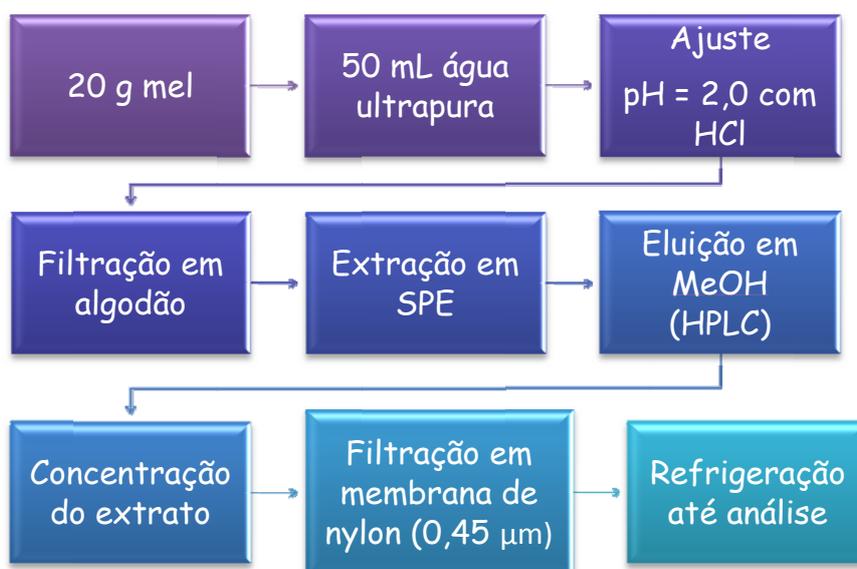


Figura 12. Fluxograma do método de extração de ácidos fenólicos

3.3.15.3. Condições cromatográficas para RP-HPLC

A separação das substâncias fenólicas foi realizada em coluna de RP- C-18 (Kromasil 100-5 250 mm x 4,6 mm), usando como fase móvel água: ácido acético (99: 1, fase A) e metanol: acetonitrila: ácido acético (59: 40: 1, fase B) em uma taxa constante de velocidade de fluxo de 0.5 mL.min.⁻¹, com gradiente de eluição: 0 min.- 22% B; 15 min.- 30% B; 17 min.- 40% B; 30 min.- 60% B; 38 min.- 30% B; 50 min.- 22% B; e modo isocrático com 22% B até 60 min. A estação de trabalho do aparelho permitiu a aquisição dos espectros de UV dos componentes analisados para serem comparados aos espectros dos padrões autênticos, permitindo assim sua identificação. O volume de injeção para os padrões e amostras de méis e pólen foi de 20 µl. O monitoramento dos cromatogramas foi realizado a 290 nm, visto que a maioria dos ácidos fenólicos e flavonóides encontrados nos méis e pólen mostra suas absorções máximas no UV, próximos a esses comprimentos de onda (Martos et al., 1997). As análises para cada amostra de mel foi realizada em triplicata e os resultados tratados estatisticamente. A determinação quantitativa dos derivados fenólicos foi realizada por sua absorbância nos cromatogramas obtidos por HPLC contra seus padrões a 290 nm. Este critério para identificação e quantificação dos derivados fenólicos usando análise por HPLC foi estabelecido pelos picos das substâncias no perfil de HPLC que foram identificados por seus espectros correspondentes em nível de 90% ou acima, com os espectros de seus padrões externos, através de curva de calibração.

3.3.15.4. Otimização das condições cromatográficas para RP-HPLC

A melhor maneira de alcançar boa seletividade no resultado da separação é a variação no valor do pH e da concentração do modificador orgânico na fase móvel.

A natureza do estudo de compostos fenólicos requer o uso de fase móvel ácida para uma satisfatória separação e resolução dos picos. São normalmente utilizados o ácido fórmico (Yoa et al., 2005), ácido acético (Weston et al., 2000) ou tampão fosfato (Dimitrova et al., 2006). Para este estudo foi escolhido ácido acético por possuir pH baixo suficiente para garantir boas condições de separação, especialmente para o ácido gálico, que é o composto mais hidrofílico. O metanol foi escolhido como modificador orgânico. Segundo Michalkiewicz et al. (2008), com o aumento do conteúdo de modificador orgânico, há diminuição dos fatores de retenção dos compostos fenólicos.

Diferentes proporções de metanol: acetonitrila: ácido acético foram testadas (90: 9: 1 até 59 :40 :1), de modo a produzir uma boa separação do analito no extrato bruto. O comprimento de onda do detector foi fixado em 290 nm e o tempo de retenção e o espectro no UV do pico do analito foi comparado com os tempos de retenção obtidos dos padrões nas mesmas condições.

O gradiente de eluição (Tabela 3) foi testado até melhor resolução e separação dos picos.

Tabela 3. Gradiente de eluição para separação de compostos fenólicos e méis

| Tempo (min) | Sol.B (%) |
|-------------|-----------|
| 0 | 22 |
| 15 | 30 |
| 17 | 40 |
| 30 | 60 |
| 38 | 30 |
| 50 | 22 |
| 60 | 22 |

3.3.16. Atividade Antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante foi utilizado solução metanólica 0,3 mM de DPPH (2,2–difetilpicrilhidrazila).

Na presença de um antioxidante (Figura 13), a coloração púrpura do DPPH decai, e a mudança de absorbância pode ser lida espectrofotometricamente. Foram preparadas soluções estoque dos méis (100 mg/ mL) e dos padrões (vitamina C e Trolox) em metanol, as quais foram diluídas em diversas concentrações e aplicadas em cubetas, juntamente com a solução metanólica do DPPH. Após 30 minutos de repouso no escuro, a determinação foi feita em espectrofotômetro UV/vis. a 517 nm. Foram realizados dois ensaios independentes, todos em triplicata. O percentual antioxidante foi calculado a partir da equação: %AA = 100 [(absorbância média da amostra – absorbância média do branco)/ absorbância média do controle x 100], onde a amostra corresponde aos extratos com DPPH, o branco ao extrato sem DPPH e controle à solução metanólica de DPPH. A atividade antioxidante foi expressa em valores de concentração efetiva em 50% do

total do efeito (CE_{50}), através do gráfico que relaciona o percentual de atividade com a concentração da substância ensaiada.

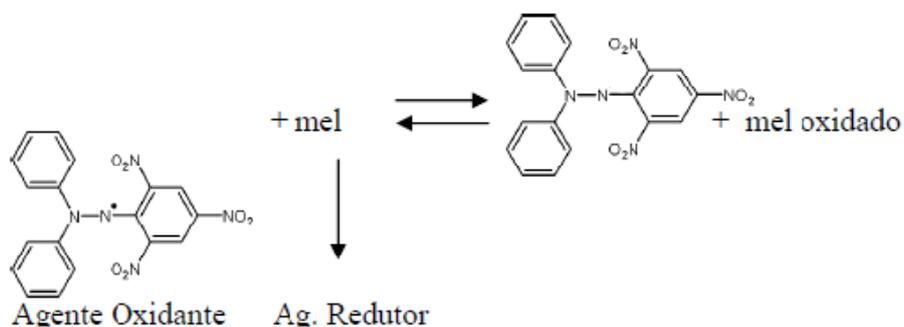


Figura 13. Reação de DPPH em mel

O modelo para avaliação da atividade antioxidante utilizando DPPH[•] é baseado na capacidade do radical livre estável 2,2-difenilpicrilhidrazila em reagir com substâncias doadoras de H ($DPPH^{\bullet} + [AH]_n \rightarrow DPPH-H + [A^{\bullet}]_n$), incluindo compostos fenólicos (Roginsky & Lissi, 2005), sendo um método amplamente utilizado e relativamente rápido quando comparado a outras técnicas (Sánchez-Moreno et al., 1998; Mensor et al., 2001). O consumo de DPPH[•] é, um índice para estimar a capacidade antioxidante na captura de radicais livres presentes no meio.

3.3.17. Análise Estatística Multivariada

Os dados obtidos foram avaliados com auxílio do programa estatístico S.A.S. (1990), utilizou-se o software MINITAB 14, para análises quimiométricas multivariadas.

As Análises de Componentes Principais (PCA) e Agrupamento Hierárquico (AHC) foram aplicados para analisar as interrelações entre a composição física e química dos respectivos méis.

Para AHC, a distância Euclidiana foi utilizada para medir a similaridade entre as amostras e o método Ward's foi usado como um algoritmo de aglomeração. As duas análises de ordenação foram realizadas nas composições físico-químicas dos méis de todas as espécies utilizando MINITAB 14. Este programa foi também utilizado para calcular as duas freqüências histogramas e teste de normalização. As amostras de mel foram submetidas às análises de PCA e AHC a fim de identificar as espécies que podem se diferenciar em detrimento da composição química.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Caracterização físico-química de méis de *Apis mellifera*, *Melipona flavolineata* e *Melipona fasciculata*.

4.1.1. pH

Os valores médios de pH nos méis analisados não sofreram grandes variações (Os resultados da análise de pH dos méis “in natura” coletados pelas espécies *A. mellifera* e meliponíneos, de municípios do Estado do Pará, são apresentados na Tabela 4. Os resultados desta tabela serão discutidos em relação às características físico-químicas dos méis entre espécies e entre regiões.

Tabela 4) estando dentro da faixa estabelecida para mel que varia de 3,3 a 4,6. (BRASIL, 2000).

Os resultados da análise de pH dos méis “in natura” coletados pelas espécies *A. mellifera* e meliponíneos, de municípios do Estado do Pará, são apresentados na Tabela 4. Os resultados desta tabela serão discutidos em relação às características físico-químicas dos méis entre espécies e entre regiões.

Tabela 4. Valores de pH encontrados para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*

| pH M (SD) | | | | |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Espécie Localidade | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Tracuateua | 3,45 ^a (±0,01) | 3,69 ^a (±0,19) | 4,27 ^b (±0,01) | Não define |
| São João de Pirabas | 3,62 ^a (±0,01) | 3,62 ^a (±0,01) | 3,62 ^a (±0,01) | |
| Nova Timboteua | 3,01 ^a (±0,01) | 3,87 ^a (±0,02) | 3,35 ^a (±0,01) | |
| São Miguel do Guamá | 3,33 ^a (±0,01) | --- | 2,99 ^a (±0,04) | |
| Vigia | 3,35 ^a (±0,01) | 3,79 ^a (±0,01) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os méis de *Apis mellifera* das cinco regiões tiveram valor médio de 3,35. Os valores de pH para méis de meliponíneo “in natura” variaram de 2,99 a 4,3 sendo que *M. flavolineata* obteve valor médio de $3,74 \pm 0,01$ e *M. fasciculata* teve valor médio de $3,56 \pm 0,02$, valores semelhantes ao encontrado para mel de *A. mellifera* (Figura 14).

A Figura abaixo mostra os valores de pH em méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

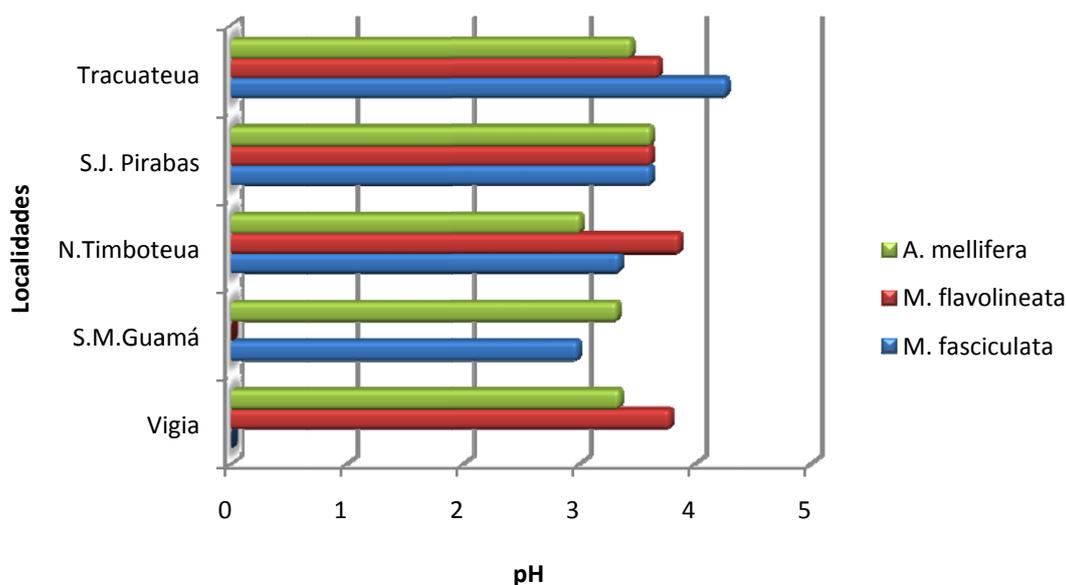


Figura 14. Valores de pH dos méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*

Azeredo et al. (2002), encontraram para o mel de *A. mellifera*, de diferentes origens florais, valores de pH entre 3,1 a 4,05. Anacleto e Marchin (2004) encontraram para méis do cerrado paulista da espécie *A. mellifera* pH entre 3,27 e 4,45. Estes valores foram semelhantes aos encontrados no presente trabalho. Silveira *et al.* (2003), analisando amostras de méis de *A. mellifera* da Bahia, encontraram valores de pH entre 3,17 e 5,08. Bogéa et al. (2001), para méis de *A. mellifera* do Estado do Maranhão encontraram valores variando de 2,96 a 4,23. Silva (2006) encontrou para méis de *A. mellifera* “in natura” do nordeste paraense um valor médio de 4,2.

Souza et al. (2004), descrevem que o baixo valor de pH é fator potencial para o desenvolvimento microbiano. Normalmente, o pH dos méis é baixo, sendo que méis com origem botânica definida, possuem características distintas de pH (Pamplona, 1989). O valor de pH do mel pode ser influenciado pelo pH do néctar, solo ou associação de vegetais para composição do mel (Crane, 1985; Azeredo et al., 2000). Substâncias mandibulares da abelha acrescidas ao néctar quando do transporte até a

colméia também podem alterar o pH do mel (Evangelista-Rodrigues et al., 2003). O pH do mel é importante por influenciar na velocidade de formação do HMF (Souza & Bazlen, 1998).

Silva (2006) obteve valores de pH variando de 3,6 a 3,8 para méis do nordeste do Estado do Pará. Resultados semelhantes foram encontrados por Souza (2003), que obteve valores variando de 3,1 a 3,4 e Almeida (2002), que encontrou valores entre 3,6 e 3,8 para méis de *M. asilvai*. Resultados semelhantes foram obtidos por este trabalho. O valor médio de pH obtido por Alves *et al.* (2005) foi 3,27 com variação entre 3,16 e 3,54. O pH encontrado para o mel de *M. scutellaris* foi 3,15 (Marchini et al., 1998).

4.1.2. Acidez Total

Os resultados da análise de acidez dos méis “in natura” coletados pelas espécies *A. mellifera* e meliponíneos, de municípios do nordeste paraense, são apresentados na Tabela 5. Os resultados desta tabela serão discutidos em relação às características físico-químicas dos méis entre espécies e entre regiões.

Tabela 5. Valores de acidez encontrados para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*

| Acidez meq/kg | | | | |
|-----------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Espécie Localidade | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Tracuateua | 73,17 ^b (±0,01) | 44,98 ^b (±0,68) | 15,52 ^a (1,08) | Max. 50 meq/ Kg |
| São João de Pirabas | 74,62 ^b (±0,28) | 34,06 ^a (3,05) | 20,20 ^b (2,06) | |
| Nova Timboteua | 71,04 ^b (±0,51) | 47,73 ^b (1,92) | 45,51 ^c (0,95) | |
| São Miguel do Guamá | 66,56 ^a (±0,23) | --- | 67,81 ^d (1,89) | |
| Vigia | 76,37 ^b (±0,48) | 35,53 ^a (0,93) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O valor médio de acidez no mel de *A. mellifera* foi $72,35 \pm 0,3$ meq/kg com variação de 66,23 meq/kg para méis do município de São Miguel do Guamá a 76,58 meq/kg para méis do município de Vigia, estando muito acima da faixa estabelecida

para mel que permite o máximo de 50 meq/kg e estando acima dos valores encontrados na literatura supracitada. Este aumento significativo pode ser o elevado teor de ácidos orgânicos causados pelas diferentes fontes de néctar e pela ação da enzima glicose oxidase responsáveis pela produção de ácido glucônico no mel (Nogueira-Neto, 1997; Rodrigues-Evangelista et al., 2003).

Os valores da acidez para as amostras de meliponíneos analisados variaram entre 68,02 meq/kg e 15,13 meq/kg, sendo que para os méis de *M. flavolineata* não houve variação significativa com valor médio de $40,57 \pm 1,64$ meq/kg. Entretanto para méis *M. fasciculata* houve grande variação em relação aos locais de coleta. Os méis coletados em Tracuateua e São João de Pirabas obtiveram os menores percentuais comparado às demais localidades com valor médio de $15,52 \pm 1,08$ meq/kg e $20,20$ meq/kg respectivamente. Por outro lado, os méis coletados em Nova Timboteua e São Miguel do Guamá apresentaram os maiores percentuais $45,51 \pm 2,06$ meq/kg e $67,81 \pm 1,89$ meq/kg, respectivamente. Neste estudo, o mel de *A. mellifera* foi mais ácido que os méis de meliponíneo (Figura 15). Contudo, esta relação não corresponde aos resultados obtidos na literatura supracitada, sendo os méis de meliponíneo, em sua maioria, mais ácidos que o mel de abelha com ferrão.

A figura abaixo mostra os valores de acidez em méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata* de cinco regiões do nordeste paraense.

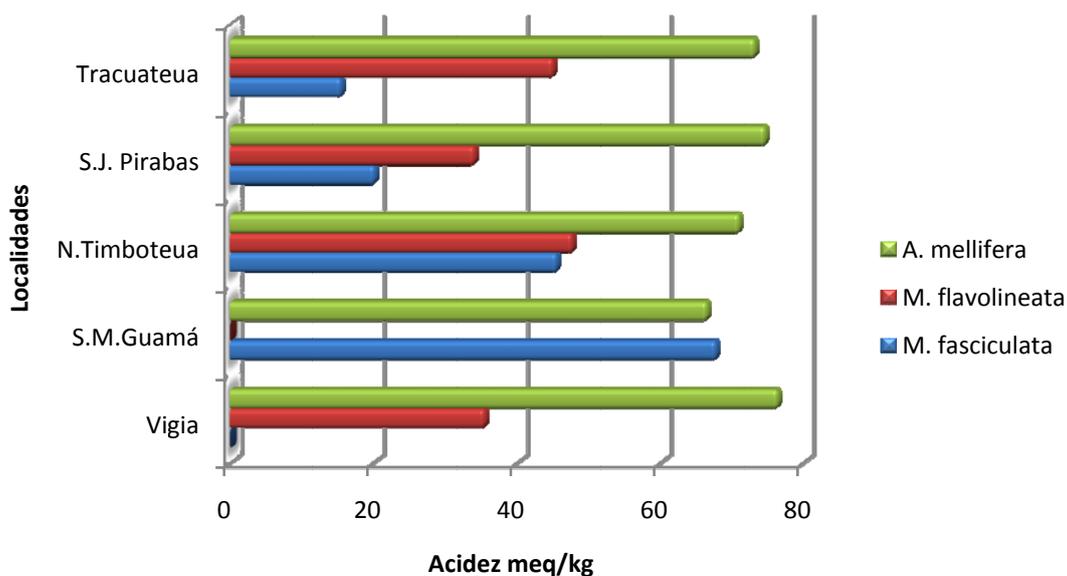


Figura 15. Valores de acidez (meq/ kg) dos méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*

Pamplona (1989) descreve que o ácido glucônico, formado através da glicose pela enzima glicose oxidase, tende sempre a aumentar, mesmo durante o armazenamento do mel, pois esta enzima permanece em atividade no mel mesmo após o seu processamento.

Bogéa et al. (2001), encontraram para méis de *A. mellifera* do Estado do Maranhão valores até 67,94 meq/kg. Um valor semelhante foi encontrado por este trabalho. Anacleto e Marchin (2004) obtiveram valores variando de 6,0 a 46,0 meq/kg com média de 21,47 meq/kg. Campos (1998) analisando amostras de méis brasileiros encontrou valores variando de 8,2 a 50,0 meq/kg. Marchini (2001) em análises de méis de diferentes municípios de São Paulo encontrou valores médios de 30,1 e 33,8 meq/kg para méis de flores silvestres e de eucalipto, respectivamente. Arruda et al., (2004) apresentaram resultados de acidez variando de 6 a 13 meq/kg, com uma média de 8,81 meq/kg. Sodré et al. (2002) obtiveram respectivamente médias de 29,10 meq/kg para acidez em amostras de méis do Estado da Bahia. Em méis provenientes do Mato Grosso do Sul, Marchini et al. (2000) encontraram acidez média de 27,7 meq/ kg.

Alves et al. (2005), encontraram para méis de *M. mandaica* varia o de 18,50 e 62,50 meq/kg, com média de 43,48 meq/kg. O teor médio de acidez para os méis de *M. compressipes* no Piauí foi de 45,75 meq/kg. Souza, Bazlen (1998) e Souza et al. (2004), encontraram para méis de *M. asilvai* na Bahia, o valor médio de 41,64 meq/kg. Entretanto, méis de *M. scutellaris* na mesma região apresentaram valores médios de 8,88 meq/kg (Marchini et al, 1998) e 28,33 meq/kg da Paraíba (Evangelista-Rodrigues, 2003). Em amostras de *M. quadrifasciata* foi encontrada acidez da ordem de 16,5 meq/kg (Almeida & Marchini, 2004).

De acordo com Horn (1996), todos os méis s o ácidos, sendo o ácido glucônico produzido pela enzima glicose-oxidase sobre a glicose o mais comum. A a o desta enzima se mant m mesmo durante o armazenamento, pois permanece em atividade no mel mesmo após o processamento (Nogueira-Neto, 1997). A acidez é importante na manuten o da estabilidade, reduzindo o risco de desenvolvimento de microorganismos (Seeman, 1988). Silva (2006) obteve para os méis de *M. fasciculata* varia o de 76 a 149 meq/kg.

No Codex Alimentarius a acidez máxima é de 50 meq/kg, embora existam alguns tipos de méis nas regiões tropicais que apresentam um teor natural de acidez mais elevado (Bogdanov et al., 1997).

4.1.3. Umidade

Os resultados da análise de umidade dos méis “in natura” coletados pelas espécies *A. mellifera* e meliponíneos, de municípios do nordeste do Estado do Pará, são apresentados na Tabela 6. Os resultados desta tabela serão discutidos em relação às características físico-químicas dos méis entre espécies e entre regiões.

Tabela 6. Valores de umidade encontrados para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Umidade % | | | | |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 20,07 ^a (±0,12) | 27,70 ^a (±0,17) | 24,90 ^a (±0,79) | Max. 20% |
| São João de Pirabas | 21,20 ^a (±1,04) | 26,73 ^a (±1,10) | 25,23 ^a (±0,25) | |
| Nova Timboteua | 19,87 ^a (±0,29) | 25,30 ^a (±0,17) | 23,33 ^a (±0,29) | |
| São Miguel do Guamá | 20,07 ^a (±0,12) | --- | 21,17 ^a (±0,76) | |
| Vigia | 20,01 ^a (±0,29) | 24,00 ^a (±0,20) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O teor médio de umidade no mel de *A. mellifera* foi de 20,24% ± 0,19, variando de 19,1 a 21,26% estando dentro dos limites estabelecidos pela Legislação Brasileira, que permite o máximo de 20% para méis de *A. mellifera*. O valor encontrado oferece segurança contra a fermentação, já que abaixo de 20% esse processo de deterioração ocorre com menor frequência.

A umidade para as amostras de méis de meliponíneo analisadas (Figura 16) apresentou variação de 21,93 a 28, 63%, valor superior a 20%, o que demonstra que todas das amostras estão de acordo com os limites especificados por Villas-Bôas e

Malaspina (2005) para méis de meliponíneo, e estando próximos aos resultados de outras espécies do gênero *Melipona* (Cortopassi-Laurino, 2000; Souza et al., 2004). Quando comparado ao valor obtido pelo mel *A. mellifera*, pode-se afirmar que méis de melipona são mais fluidos. Neste estudo, os méis da espécie *M. flavolineata* de todas as regiões apresentaram os maiores teores de umidade, seguido dos méis da espécie *M. fasciculata*.

No gráfico abaixo são apresentados percentuais de umidade em méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata*, *M. fasciculata*.

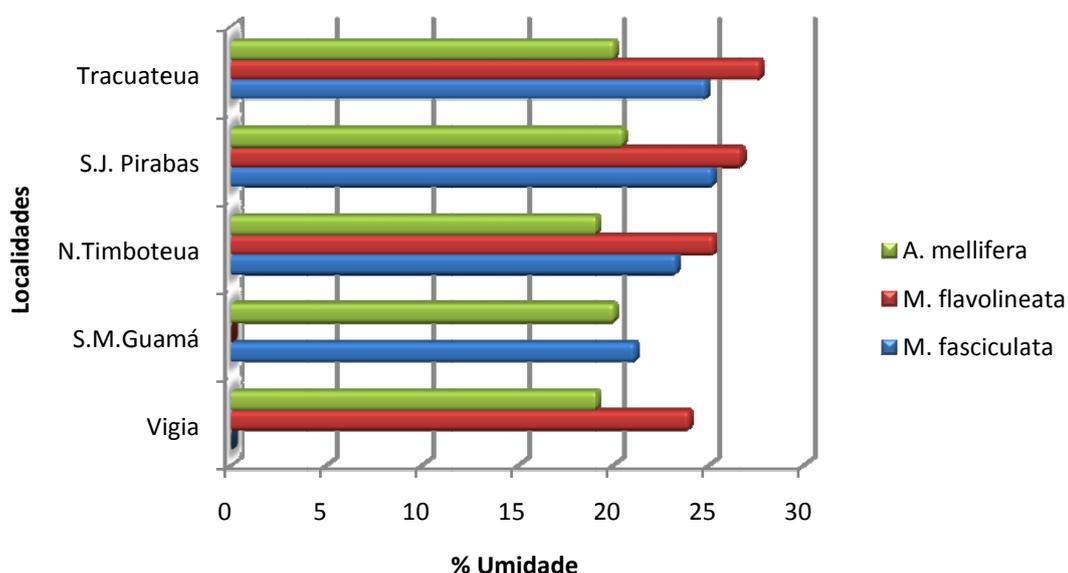


Figura 16. Valores de umidade dos méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*

No Estado da Bahia, Sodré et al. (2002) observaram uma varia o de 17,66 a 22,9% para umidade (média 19,77%) em méis do litoral norte. Cornejo & Tomasevich (1970), analisando méis de diferentes localidades dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, encontraram méis com umidade superior a 20%. Gamero et al. (1970) estudaram 169 amostras de méis de diferentes localidades da Argentina, e a maioria apresentou umidade inferior a 20%. Silva (2006) obteve 19% de umidade para méis de *A. mellifera* do nordeste paraense. A umidade em méis analisados por Arruda et al., (2004) variou de 14,97 a 17,23%, com uma média de 15,74%. Campos et al. (2003), analisando amostras de mel floral e mel de melato de *A. mellifera*, obtiveram varia o ente 15 e 20,8%.

Estudos sobre as características físico-químicas dos méis de *M. scutellaris* provenientes dos Estados da Bahia e da Paraíba apresentaram valores de umidade da ordem de 28,40% (Marchini et al., 1998) e *M. scutellaris* 24 a 29% por Cortopassi-Laurino (2000). Ainda 25,26% foram obtidos para a mesma espécie (Evangelista-Rodrigues, 2003). Silva (2006) encontrou para mel de *M. fasciculata* o teor médio de 28% de umidade em méis do nordeste paraense. Para o mel de *M. compressipes fasciculata* foi observada também uma variação dependendo da região: 26,94% no Maranhão (Kerr, 1996). 25% no Piauí (Souza & Bazlen, 1998) e 27% no Tocantins (Azeredo et al., 2000). Para Souza et al. (2003), o mel apresentou uma concentração média de umidade na ordem de $28,6\% \pm 4,6$, sendo o maior percentual constatado na *M. compressis* foi $34,6\% \pm 0,5$ e a menor concentração na *Melipona rufiventris paraensis* obtida foi $23,9\% \pm 0,6$. Valores similares ao mel da *M. compressipes manausensis* ($25,3\% \pm 0,7$) foram registrados nas análises preliminares de características físico-químicas de méis de Tiúba (*Melipona compressipes*) do Piauí (25%) (Souza & Bazlen, 1998).

O excesso de água encontrado no mel dos meliponíneos é devido à baixa taxa de desidratação do néctar durante o processo de transformação em mel. Méis de espécies de habitat úmidos normalmente apresentam um conteúdo maior de água, que é influenciado pelas condições ambientais (Cortopassi-Laurino, 2000).

4.1.4. Resíduo Mineral Fixo

O teor de resíduo mineral fixo (cinzas), nos méis das espécies em estudo obteve variação de 0,03 a 0,24%, estando dentro dos padrões exigidos pela Legislação Brasileira (Tabela 7).

Tabela 7. Teores de resíduo mineral fixo encontrados para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Resíduo Mineral Fixo % | | | | |
|------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 0,06 ^a (±0,01) | 0,33 ^a (±0,05) | 0,08 ^a (±0,01) | Max. 0,6% |
| São João de Pirabas | 0,13 ^a (±0,01) | 0,19 ^a (±0,03) | 0,15 ^a (±0,01) | |
| Nova Timboteua | 0,14 ^a (±0,02) | 0,14 ^a (±0,01) | 0,22 ^a (±0,04) | |

| | | | | |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--|
| São Miguel do Guamá | 0,03 ^a (±0,01) | --- | 0,17 ^a (±0,02) | |
| Vigia | 0,24 ^a (±0,02) | 0,24 ^a (±0,02) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Estes resultados indicam que os processos de extração dos méis foram realizados corretamente, pois segundo Rodrigues-Evangelista et al. (2004), valores elevados de cinzas indicam algumas irregularidades no mel, como por exemplo, a falta de higiene e não decantação ou filtração no final do processo de retirada do mel.

Anacleto & Marchin (2004) encontraram valores de cinzas em méis de *A. mellifera* que variam de 0,02 a 0,77%, com um valor médio de 0,29%. Marchini (2001) cita os trabalhos de diversos autores que observaram valores numa faixa de variação de 0,02 a 0,90% para méis de diferentes origens florais. Silva (2006) encontrou teores médios de 0,2% de cinzas, semelhante ao encontrado neste trabalho. Souza et al. (2004) encontraram para méis de meliponíneo na região amazônica teor de cinzas para as espécies *M. compressipes manaosensis* (Jupará), *M. rufiventris paraensis* (Uruçu boca de ralo) e *M. seminigra merrillae* (Jandaíra) de 0,2%, 0,2% e 0,3%, respectivamente. Silva (2006) obteve para mel de *M. fasciculata* do nordeste paraense teor médio de 0,1%.

4.1.5. Sólidos Solúveis

O teor de sólidos solúveis encontrado nos méis não variou significativamente (Tabela 8).

Tabela 8. Valores de resíduo mineral fixo para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Açúcar Redutor g/100 g | | | | |
|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 78,47 ^a (±0,06) | 70,30 ^a (±0,68) | 73,67 ^a (±0,76) | Mín. 65 g/100 g |
| São João de Pirabas | 78,13 ^a (±0,12) | 71,40 ^a (±1,22) | 73,00 ^a (±0,20) | |
| Nova Timboteua | 79,33 ^a (±0,29) | 72,93 ^a (±0,12) | 75,23 ^a (±0,25) | |

| | | | | |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--|
| São Miguel do Guamá | 78,00 ^a (±0,01) | --- | 78,63 ^a (±0,32) | |
| Vigia | 79,23 ^a (±0,25) | 73,77 ^a (±0,25) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O teor médio para méis de *A. mellifera* foi 78,63%, para méis de *M. flavolineata* foi 72,1% e para méis de *M. fasciculata* foi 75,13%. Estes valores correspondem aos açúcares e ácidos solúveis presentes na solução de mel tendo relação direta com a acidez e o teor de açúcares totais do mel. A Legislação Brasileira não exige valores para este parâmetro e não foram encontrados valores para este parâmetro na literatura supracitada.

4.1.6. Açúcares

Os resultados da análise de açúcares dos méis “in natura” coletados pelas espécies *A. mellifera* e meliponíneos, de municípios do nordeste do Estado do Pará, são apresentados na Figura 17, Figura 18 e Figura 19.

4.1.6.1. Açúcares Redutores

No conteúdo de açúcares redutores foi encontrado variação de 69,28 a 78,13% nos méis da espécie *A. mellifera*. Os teores de açúcar redutor para estas amostras estão dentro dos padrões mínimos exigidos pela Legislação Brasileira (Tabela 9).

Tabela 9. Valores de açúcar redutor para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Açúcar Redutor % | | | | |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 78,47 ^a (±0,06) | 70,30 ^a (±0,68) | 73,67 ^a (±0,76) | Mín. 65% |
| São João de Pirabas | 78,13 ^a (±0,12) | 71,40 ^a (±1,22) | 73,00 ^a (±0,20) | |
| Nova Timboteua | 79,33 ^a (±0,29) | 72,93 ^a (±0,12) | 75,23 ^a (±0,25) | |
| São Miguel do Guamá | 78,00 ^a (±0,01) | --- | 78,63 ^a (±0,32) | |

| | | | | |
|-------|----------------------------|----------------------------|-----|--|
| Vigia | 79,23 ^a (±0,25) | 73,77 ^a (±0,25) | --- | |
|-------|----------------------------|----------------------------|-----|--|

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os méis de meliponíneos apresentaram teores de açúcar redutor sem grandes variações, porém inferiores ao da espécie *A. mellifera* (Figura 17), exceto para mel de *M. flavolineata* da região de Nova Timboteua que obteve valor superior comparado às demais espécies da mesma localidade. Os méis apresentaram valores variando de 64,54 a 75,83%.

A Figura 17 apresenta os teores de açúcares redutores em méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata*, *M. fasciculata*.

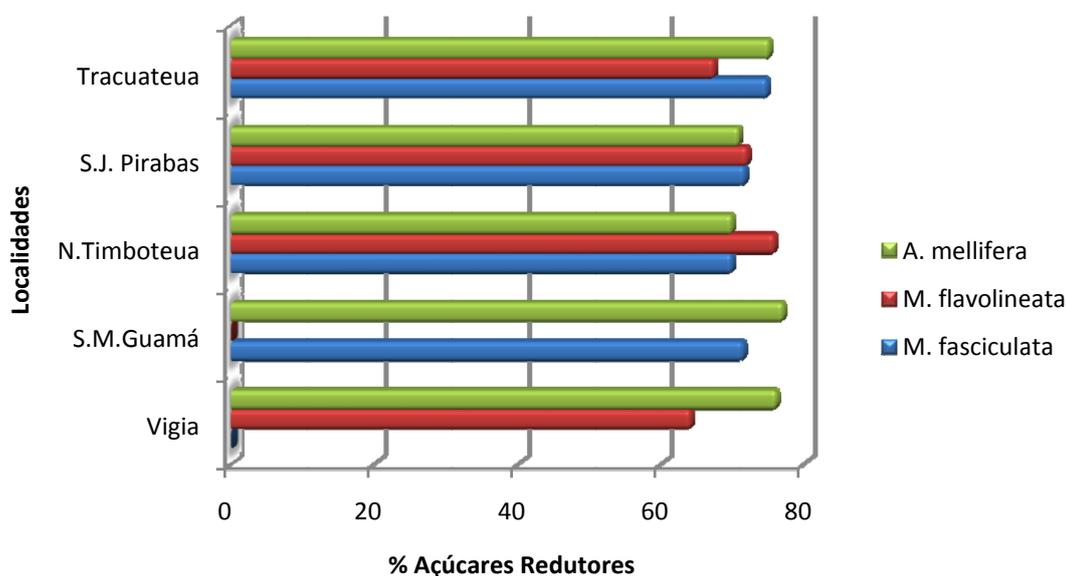


Figura 17. Valores de açúcar redutor dos méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*

Arruda et al. (2004) obtiveram variação de 74,76 a 81,99%, com a média de 77,94%. Assim como os valores apresentados por Rodrigues et al. (1996), que obtiveram a média de 77,86% em méis de eucalipto cristalizados. Silva (2006) obteve variação entre 86,9 a 85,9% em açúcares redutores. Em méis do litoral baiano, Sodré et al. (2002) encontraram 69,20% para açúcares redutores. Anacleto e Marchini (2004) apresentaram valores de açúcar redutor com variação de 66,7 a 78,0%, com valor médio de 73,1%, semelhante aos valores encontrados neste trabalho. Os valores encontrados por Komatsu (1996) em méis de diferentes origens florais do Estado de São Paulo

apresentaram variações de 53,2 a 80,3%. Campos (1998) encontrou em méis de Minas Gerais valores variando de 60,4 a 77,1%. Magalhães et al. (2002) registraram valor médio de 71,33% em méis do sul do Estado da Bahia. Carneiro et al. (2002) analisaram méis da região de Simplício Mendes (Piauí) e encontraram uma variação de 70,38 a 87,39% para açúcares redutores de méis de *A. mellifera*.

Alves et al. (2005) obtiveram conteúdo de açúcares redutores variando de 64,29% a 82,10% com média de 74,82 % em méis de *M. mandaica*. Souza (2003) analisando amostras de méis do Estado da Bahia encontrou valores para açúcar redutor variando de 66 a 76%. Valores semelhantes foram encontrados neste trabalho. Estudo sobre o mel de *M. asilvai* indicou o valor médio de 68,9% para esse parâmetro (Souza et al., 2004). Silva (2006) obteve para mel de *M. fasciculata* do nordeste paraense variação de 76 a 76,47%. Nesta mesma região foram encontrados valores semelhantes variando de 69,22 a 76,10% para os méis da mesma espécie durante o período de maior produção que na região ocorre de outubro a dezembro.

Os principais açúcares encontrados no mel são a glicose e a frutose, em proporções quase iguais (Kerr, 1996), sendo importantes para o estabelecimento de uma série de características deste produto (Moreira & Maria, 2001). Normalmente a frutose é predominante, sendo um dos fatores responsáveis pela doçura do mel e sua alta higroscopicidade (Crane, 1985). Méis com altas taxas de frutose podem permanecer líquidos por longos períodos ou nunca cristalizar (Horn, 1996). Apesar das médias das amostras estarem dentro dos parâmetros, pode ser notado um teor elevado de açúcares redutores, decorrente provavelmente da influência da flora de cada espécie.

4.1.6.2. Açúcares Totais

Os méis da espécie *A. mellifera* apresentaram teores de açúcar total variando de 78 a 81%. Para açúcares totais não existe valor estabelecido na norma vigente (Tabela 10). Em relação à literatura supracitada, o valor encontrado está de acordo com os demais valores para méis de *A. mellifera*. A variação de açúcares totais para as espécies de meliponíneos analisadas variou de 69,1 a 86,13%.

O maior valor médio encontrado foi nos méis de *M. fasciculata* da região bragantina com teor de 85,80% \pm 2,18 e 84,94% \pm 2,99, respectivamente. O menor valor encontrado foi para a espécie *M. flavolineata* das regiões de Tracuateua e Vigia com teor médio de 69,35% \pm 0,59 e 69,16% \pm 1,60.

Tabela 10. Valores de açúcar total para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Açúcar Total % | | | | |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 82,13 ^a (±1,08) | 69,35 ^a (±0,59) | 85,80 ^b (±2,18) | Não indica |
| São João de Pirabas | 78,60 ^a (±0,26) | 76,43 ^b (±2,02) | 84,94 ^b (±2,99) | |
| Nova Timboteua | 78,20 ^a (±0,80) | 77,66 ^b (±1,36) | 74,53 ^a (±0,24) | |
| São Miguel do Guamá | 80,64 ^a (±0,31) | --- | 77,08 ^a (±0,51) | |
| Vigia | 78,45 ^a (±1,98) | 69,16 ^a (±1,60) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Figura 18 são mostrados os teores de açúcares totais em méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata*, *M. fasciculata*.

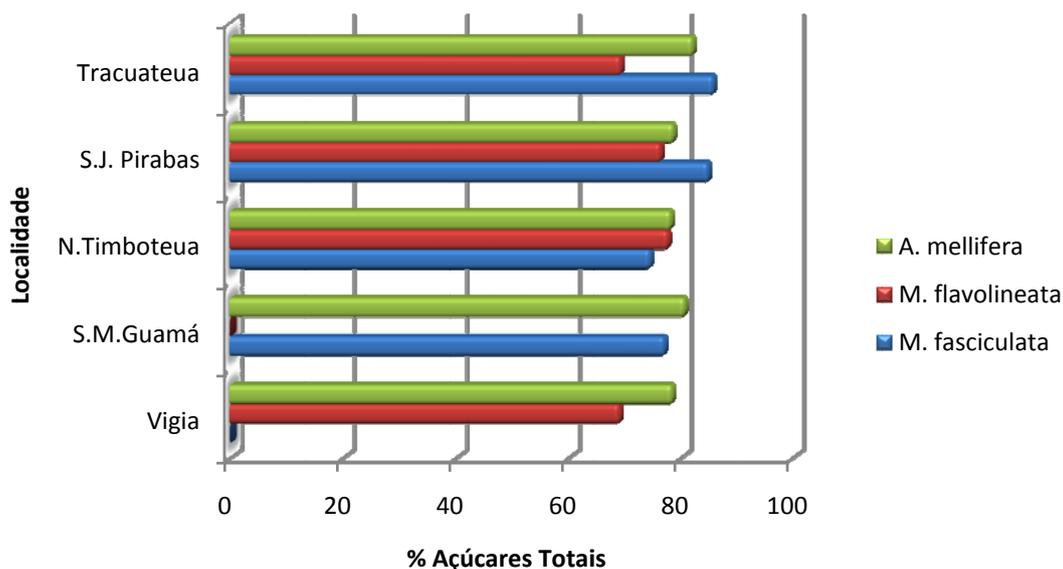


Figura 18. Valores de açúcares totais dos méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

Marchini (2004) obteve teor de açúcares totais variando de 73,54 a 83,44% com valor médio de 78,28%. Estes teores foram iguais aos obtidos por este trabalho. Nas análises de Arruda et al. (2004), a quantidade de açúcares totais variou de 77,04 a 87,16%, com o valor médio de 81,58%. Almeida (2002) verificou uma variação de 72,4

a 85,0% em méis poliflorais produzidos em área do cerrado paulista. Komatsu et al. (2002) obtiveram açúcares totais variando de 71,2 a 81,6% (média de 76,6%) em méis de laranjeira. Campos (1998) observou teores de açúcares totais variando de 58,36 a 81,93%, com média de 65,22%, em méis de diferentes origens florais e provenientes de Minas Gerais e Santa Catarina. Sodré et al. (2002) analisando as amostras de méis no litoral norte da Bahia obtiveram uma varia o de 66,05 a 75,62% destes a u ares com média de 71,72%. Souza et al. (2004) encontraram em méis de meliponíneo da região amazônica teor de a u ares para as espécies *M. compressipes manaosensis* (Jupar ), *M. rufiventris paraensis* (Uruçu boca de ralo) e *M. Seminigra merrillae* (Jandaíra) de $67,2\% \pm 0,3$, $75,5\% \pm 0,6$ e $72,4\% \pm 1,5$, respectivamente.

4.1.6.3. Sacarose

A sacarose foi um parâmetro analisado nos méis, onde para *Apis mellifera* foi obtido valores variando de 2,3 a 7,9%. (Tabela 11).

Entre os dissacarídeos, a sacarose representa, em média, 2 a 3% dos carboidratos e quando superior a este valor, indica se um mel está verde ou foi adulterado. Ela pertence aos oligossacarídeos e quando sofre a hidrólise, pela a o de ácidos diluídos ou enzimas (invertase), resulta em dois monossacarídeos: frutose e glicose (Vidal & Fregosi, 1984).

Tabela 11. Valores de sacarose para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Sacarose % | | | | |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legisla o Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 7,05 ^c (±0,95) | 1,78 ^a (±0,51) | 12,96 ^c (±4,52) | Max. 6% |
| S o Jo o de Pirabas | 7,85 ^c (±2,10) | 4,21 ^b (±0,96) | 13,28 ^c (±1,47) | |
| Nova Timboteua | 2,30 ^a (±0,54) | 1,82 ^a (±2,41) | 4,60 ^a (±2,25) | |
| S o Miguel do Guam  | 3,62 ^b (±1,30) | --- | 5,64 ^b (±0,12) | |
| Vigia | 2,33 ^a (±2,18) | 4,98 ^b (±1,0) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O teor de sacarose analisado em méis de meliponíneo variou de 1,75 a 13,4% (Figura 19). Os méis de *M. fasciculata* da região bragantina obtiveram os mais elevados teores que correspondem a 12,96% para méis do município de Tracuateua e 13,28% para méis do município de São João de Pirabas, estando acima do valor máximo exigido pela Legislação Brasileira que de acordo com as normas para méis estabelecem um máximo de 6% para méis de origem floral (Brasil, 2000). Os demais estão dentro do valor exigido pela Legislação Brasileira. O teor elevado de sacarose no mel de *M. fasciculata* pode significar uma colheita prematura do mel, isto é, um produto em que a sacarose ainda não foi totalmente transformada em glicose e frutose pela ação da invertase (Azeredo et al., 1999).

O gráfico abaixo apresenta os teores de sacarose presente nos méis “in natura” das espécies analisadas.

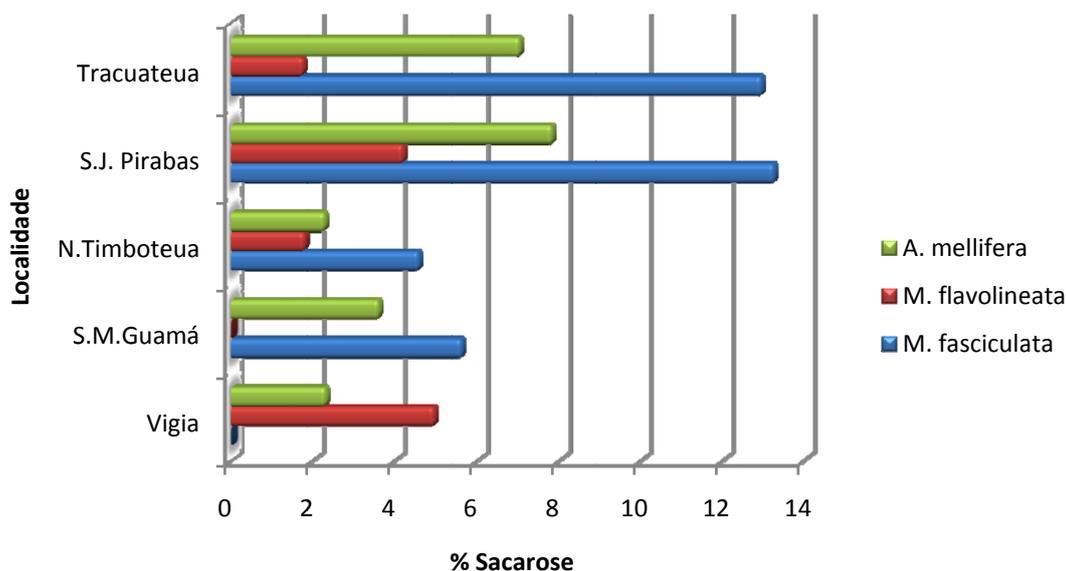


Figura 19. Valores de sacarose dos méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

Anacleto e Marchin (2004) encontraram teores de sacarose variando de 0,2 a 11,4%, com valor médio de 4%. Para Arruda et al. (2004), os valores de sacarose aparente dos méis variaram entre 0,84 a 8,19%, com um valor médio de 3,45%. Sodré et al. (2002) constataram 0,38 a 7,39% de sacarose em méis brasileiros do Estado da Bahia. Valores correspondentes aos descritos foram encontrados neste trabalho. Komatsu (1996) observou valores de até 11,8% em amostras de méis do Estado de São

Paulo. Os valores de sacarose encontrados nas amostras de méis de *A. mellifera* por Marchini (2001) variaram de 1,05 a 6,87% obtendo valor médio de 3,78%.

O teor de sacarose das amostras analisadas por Alves et al. (2005) variou de 0,61 a 6,19%, com valor médio de 2,91%. Os valores observados estão próximos aos encontrados para méis de *A. mellifera* da Bahia (2,40%) (Sodré et al., 2003) e de São Paulo (4,50%) (Almeida & Marchini, 2004). Para méis de *M. asilvai*, o valor obtido foi 4,70% (Souza et al., 2004). Silva (2006) analisando os méis de *M. fasciculata* do nordeste paraense obteve variação de 3,18 a 3,98%, sendo semelhante aos valores encontrados para *M. flavolineata* no presente estudo. Há uma grande variação na distribuição da sacarose nas amostras de mel nos diversos trabalhos encontrados na literatura (Moreira & Maria, 2001). A concentração de sacarose constitui um bom critério para diferenciar os méis monoflorais dos poliflorais (Magana, 1998).

4.1.7. Proteína

Os méis da espécie *A. mellifera* apresentaram variação de 0,1 a 0,69% (Tabela 12). Para proteína não existe valor estabelecido na norma vigente. A norma internacional exige teor mínimo de proteína seja de 0,26%, estando os méis analisados de acordo com a os padrões internacionais de consumo. O valor de proteína em mel é extremamente baixo não ultrapassando 1%.

Tabela 12. Valores proteína para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Proteína % | | | | |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 0,43 ^a (±0,07) | 0,28 ^a (±0,08) | 0,1 ^a (±0,05) | Não indica |
| São João de Pirabas | 0,68 ^a (±0,05) | 0,27 ^a (±0,01) | 0,15 ^a (±0,04) | |
| Nova Timboteua | 0,33 ^a (±0,17) | 0,38 ^a (±0,14) | 0,40 ^a (±0,04) | |
| São Miguel do Guamá | 0,55 ^a (±0,03) | --- | 0,41 ^a (±0,24) | |
| Vigia | 0,61 ^a (±0,07) | 0,28 ^a (±0,00) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em amostras de mel da Bahia, Carvalho et al. (1998) e Sodré et al. (2002) encontraram médias de 0,44% assemelhando-se ao valor encontrado neste trabalho. O contéudo de proteínas obtido por Anacleto & Marchin (2004) varia de 0,07 a 0,49% com valor médio de 0,23%. Em amostras de mel da Bahia, Carvalho et al. (1998) e Sodré et al. (2002) encontraram médias de 0,44% assemelhando-se ao valor encontrado neste trabalho. Marchini & Moretti (2001) registraram valores médios de 0,38% para proteína de méis de eucaliptos do Estado de São Paulo. No mesmo Estado Almeida (2002) observou 0,23%. Marchini (2004) obteve contéudo de proteína para as amostras de méis analisados no Estado do Tocantins, variando de 0,24 a 0,49%.

Marchini et al. (1998) encontraram teor médio de proteína $0,51\% \pm 0,32$ no mel da abelha uruçu (*M. scutellaris*) na Bahia. Souza et al. (2003) encontraram teor médio de proteína do mel para as espécies *M. compressipes manaosensis* (Jupar a), *M. rufiventris paraensis* (Uruçu boca de ralo) e *M. seminigra merrillae* (Jandaíra) de 0,2%, 0,4% e 0,4%, respectivamente.

4.1.8. Atividade Diastásica

O presente trabalho obteve para amostra de mel de *A. mellifera* valor médio de 15 DN. Pode-se verificar que o mel está de acordo com a norma vigente, ou seja, o valor encontra-se acima de 8 DN que é o valor mínimo estabelecido.

Não foi possível com a utiliza o da metodologia internacional C.A.C (1990) a determina o da atividade enzimática, por não apresentarem atividade diastásica ou por não possuírem em grande quantidade sendo necessário a padroniza o de metodologias para análise desses méis (Tabela 13).

Na literatura científica não foram encontrados dados sobre a atividade diastásica do mel de abelhas sem ferrão. Entretanto, Villas Bôas & Malaspina (2005) obtiveram laudos fornecidos pelo Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) da UNESP de Rio Claro com informaçoes sobre a diastase de mel de meliponíneo. Estas informaçoes foram utilizadas no estudo dos parâmetros físico-químicos em méis de abelha sem ferrão. O referido estudo sugeriu que o valor mínimo de atividade diastásica para o mel de meliponíneos do Brasil seja correspondente a 3,0 DN na Escala Gothe. O mínimo permitido para o mel de *Apis mellifera* corresponde a 8,0 DN.

Tabela 13. Valores de atividade diastásica para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Atividade Diastásica DN | | | | |
|-------------------------|---------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 14 ^a | nd | nd | Não indica |
| São João de Pirabas | 14,5 ^a | nd | nd | |
| Nova Timboteua | 13 ^a | nd | nd | |
| São Miguel do Guamá | 14 ^a | --- | nd | |
| Vigia | 14 ^a | nd | --- | |

M: média; **SD:** desvio padrão;

---: não analisados

nd: não detectados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Melo et al., (2003) obtiveram valor médio inicial da atividade diastásica encontrado para os méis de florada silvestre armazenados na Paraíba variando de 0,021 DN a 18,72 DN. O valor encontrado por Bianchi (1989) para méis silvestres foi 17,65 DN. O valor médio inicial da atividade diastásica encontrado para os méis de florada de baraúna armazenados na Paraíba foi de 0,027 DN a 13,27 DN.

Marchini (2004) encontrou atividade diastásica das amostras de méis analisados no Estado do Tocantins variando de 11,51 a 44,84 DN, com valor médio de 22,43 DN. Sodré et al. (2002) obtiveram em diferentes amostras do Estado da Bahia. Costa et al. (1999) encontraram em amostras de diferentes origens florais valores variando de 5,9 a 66,7 DN e Sodré et al. (2002) verificaram a atividade diastásica em méis da região litoral norte do Estado da Bahia variando de 16,66 a 62,81 DN, com média de 34,11 DN, sendo superior aos 22,43 DN observado no presente trabalho. Enquanto, Andrade et al. (1999) observaram em méis portugueses valores variando de 13,00 a 51,10 DN.

4.1.9. Hidroximetilfurfural

Os valores encontrados para HMF variaram de 3,5 a 8,7 mg/kg, estando dentro dos padrões exigidos pela Legisla o Brasileira que   no máximo 60 mg/ kg (Tabela 14).

Tabela 14. Valores de HMF para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Hidroximetilfurfural mg/kg | | | | |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 8,07 ^d (±0,5) | 5,32 ^a (±0,05) | 6,6 ^b (±1,41) | Máx. 60 meq/kg |
| São João de Pirabas | 3,54 ^a (±0,60) | 6,38 ^b (±1,90) | 3,96 ^a (±0,27) | |
| Nova Timboteua | 6,45 ^b (±0,31) | 6,73 ^b (±0,17) | 6,91 ^b (±0,35) | |
| São Miguel do Guamá | 7,35 ^c (±0,20) | --- | 8,29 ^c (±0,71) | |
| Vigia | 8,70 ^d (±0,33) | 5,45 ^a (±0,1) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os valores obtidos de hidroximetilfurfural em mel das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*, que estão dentro valor máximo estabelecido pela legislação nacional e internacional para méis, são apresentados na Figura 20.

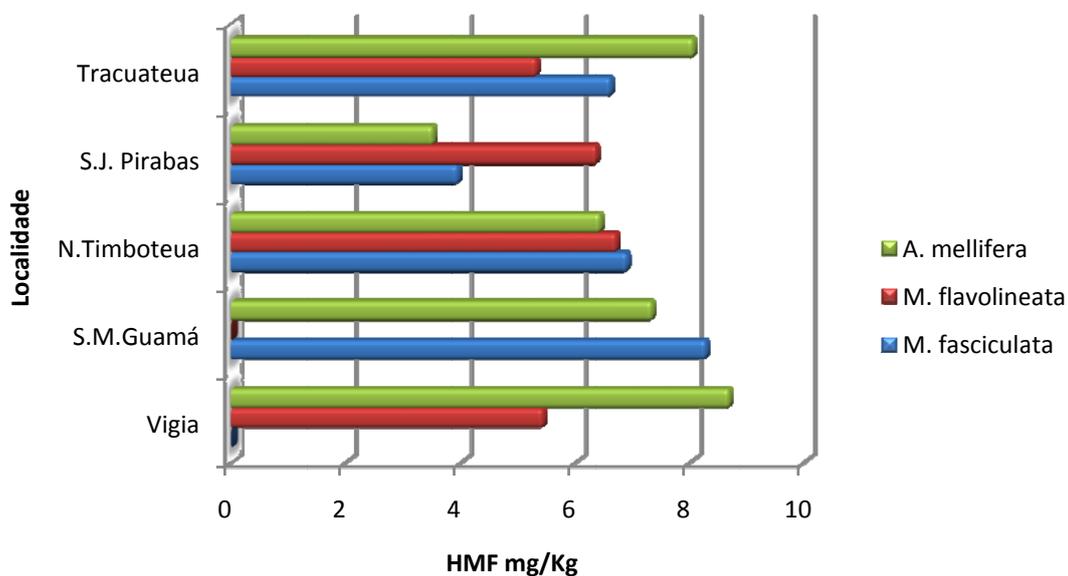


Figura 20. Valores de HMF dos méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*

Arruda et al. (2004), encontraram quantidade de hidroximetilfurfural (HMF), semelhante ao encontrado nesta pesquisa, variando de 1,50 a 8,08 mg/ kg. Dayrell & Vital (1991) analisaram amostras de méis brasileiros pelo método da A.O.A.C. (1990) e encontraram valores variando de 1,1 a 248,2 mg/kg. Marchini (2001) em análises de méis de diferentes municípios de São Paulo encontrou valores médios de 19,3 e 17,4 mg/ kg para méis de flores silvestres e de eucalipto, respectivamente.

Em méis do Estado da Bahia, Marchini et al. (2001) detectaram valores para HMF que variaram de 0,449 a 268,36 mg/ kg. White Júnior (1992) menciona que méis de países subtropicais podem ter, naturalmente, um alto valor de HMF sem que o mel tenha sido superaquecido ou adulterado, devido a altas temperaturas. Sodré et al. (2002) observaram valores variando de 1,50 a 136,00 mg/ kg, com média de 24,33 mg/ kg em amostras de méis da região litoral norte da Bahia. Persono-oddo et al. (1995) encontraram uma variação de 2,0 a 11,6 mg/ kg (média 4,59 mg/ kg) em méis uniflorais italianos.

O resultado médio de HMF encontrado por Alves et al. (2005) em méis da subtribo melipona foi de 5,79 mg/kg. O HMF encontrado em amostras de méis de outras espécies de Melipona também apresentou valores baixos, como em *M. asilvai* 2,44 mg/kg (White, 1979), *M. quadrifasciata* 1,03 mg/kg (Almeida & Marchini, 2004) e *M. scutellaris* 0,38 mg/kg por Marchini et al., (1998).

Uma pequena quantidade de HMF é encontrada em méis recém-colhidos (Horn, 1996). Esta substância é formada pela reação de certos açúcares com ácidos, sendo a frutose considerada a principal formadora do composto, devido à ação de ácidos e do calor. Além disso, o conteúdo de HMF no mel também pode ser afetado pela acidez, pH, conteúdo de água e minerais (White, 1979). Méis com taxas maiores de frutose dão origem a maiores taxas de HMF ao longo do armazenamento (Horn, 1996). A quantidade de HMF observada numa análise de mel pode ser utilizada como indicador de qualidade, sendo que os valores aumentam mais rapidamente em méis submetidos a altas temperaturas por superaquecimento e armazenamento (Crane, 1985). Mesmo em ambiente com temperaturas altas, como na região onde habita os meliponíneos em estudo, os méis apresentaram baixos teores de HMF. Valores elevados de HMF encontrados nos méis de meliponíneos podem estar associados às técnicas inadequadas de manejo e/ou condições climáticas adversas da região (Rego et al., 2002). A recomendação do Codex Alimentarius prevê uma taxa máxima de 80 mg/kg de HMF, para méis provenientes de países tropicais. Esta recomendação de uma taxa máxima

mais elevada baseia-se no fato de, nos países quentes, o teor de HMF de o mel aumentar mais rapidamente durante o tempo de armazenamento (Bogdanov et al., 1997).

4.1.10. Cor

As amostras analisadas estão dentro dos padrões exigidos pela Legislação Brasileira, que classifica o mel do incolor ao âmbar escuro. A cor do mel líquido pode, realmente, variar de branco aquoso próximo de preto, com variantes tendendo para matizes de verde ou vermelho, ou mesmo azul (Crane, 1985).

Tabela 15. Cores correspondentes aos méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Cor | | | | |
|-----------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------|
| Espécie Localidade | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Tracuateua | 0,462 (âmbar) | 0,367 (âmbar claro) | 0,162 (extra âmbar claro) | Branco d'água a âmbar escuro |
| São João de Pirabas | 0,592 (âmbar) | 0,428 (âmbar) | 0,496 (âmbar) | |
| Nova Timboteua | 0,442 (âmbar) | 0,262 (âmbar claro) | 0,334 (âmbar claro) | |
| São Miguel do Guamá | 0,552 (âmbar) | --- | 0,335 (âmbar claro) | |
| Vigia | 0,331 (âmbar claro) | 0,124 (extra âmbar claro) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A cor do mel está associada à sua origem floral, porém as substâncias responsáveis pela cor são ainda desconhecidas (Pamplona, 1989). Acredita-se que minerais estejam entre os fatores responsáveis. Entretanto, o armazenamento prolongado, a luz, as possíveis reações enzimáticas, aquecimento e o processo de colheita podem escurecer o mel (Crane, 1985).

Nos mercados mundiais o mel é avaliado por sua cor, sendo que méis mais claros alcançam preços mais elevados (Carvalho et al., 2003) A predominância de cores claras nos méis de meliponíneos pode resultar num produto de alta aceitação no mercado internacional. É importante destacar que a composição exata de qualquer mel depende, principalmente, das fontes vegetais das quais ele é derivado, mas também do

clima, solo e outros fatores (Crane, 1983), estando suas características diretamente relacionadas ao local de produção. Este fato dificulta a proposição de uma única norma para todo o Brasil, país rico em espécies de meliponíneos e caracterizado por um grande mosaico de habitat e formações vegetais (Villas-Bôas & Malaspina, 2005).

4.1.11. Ácido ascórbico

O valor de ácido ascórbico, em mel de *A. mellifera*, encontrado não obteve variação significativa com valor médio de 4,65 mg/100 g \pm 0,26. Este parâmetro não possui valor estabelecido pela norma vigente (Tabela 1 Tabela 16).

Tabela 16. Valores de HMF para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Ácido Ascórbico mg de ácido gálico/100g de mel | | | | |
|--|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 4,63 ^a (\pm 0,26) | 1,90 ^a (\pm 0,17) | 1,05 ^a (\pm 0,00) | Não indica |
| São João de Pirabas | 4,84 ^a (\pm 1,19) | 1,05 ^a (\pm 0,00) | 3,13 ^b (\pm 0,00) | |
| Nova Timboteua | 4,76 ^a (\pm 0,54) | 4,99 ^c (\pm 0,14) | 4,59 ^c (\pm 0,21) | |
| São Miguel do Guamá | 4,59 ^a (\pm 0,22) | --- | 4,18 ^c (\pm 0,77) | |
| Vigia | 4,44 ^a (\pm 0,67) | 2,09 ^b (\pm 0,01) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O valor de ácido ascórbico para os méis de meliponíneo neste estudo variou de 1,05 a 5,1 mg/100 g . Os valores de ácido ascórbico para mel de abelha com e sem ferrão são baixos, quando comparados a outros alimentos.

A Figura 21 apresenta os valores de ácido ascórbico obtidos para mel “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

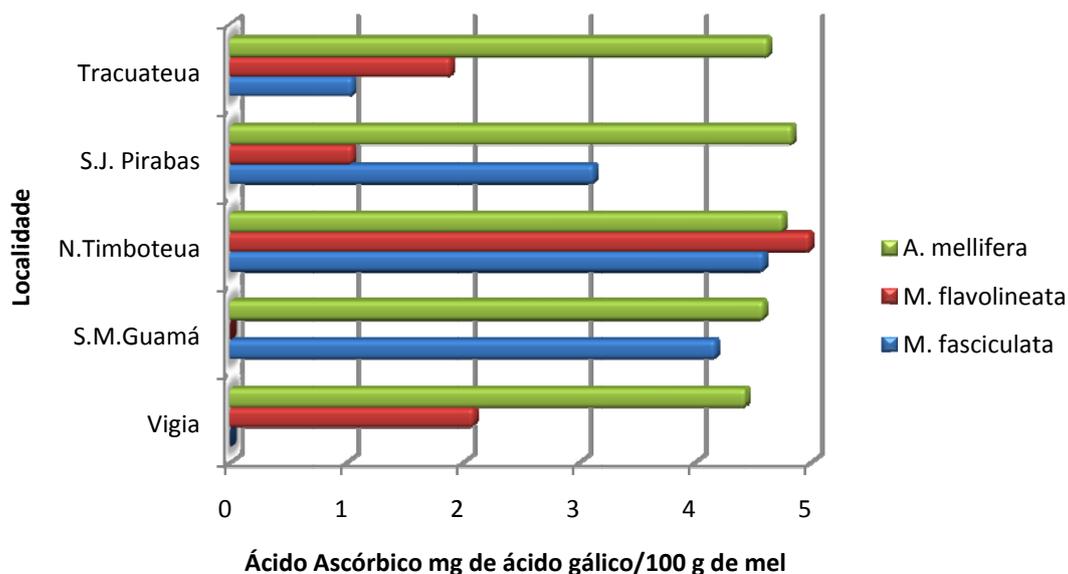


Figura 21. Valores de ácido ascórbico dos méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*

4.1.12. Polifenóis Totais

O valor de polifenóis totais extraídos do mel de *A. mellifera* variou de 36,7 a 154,3 mg de ácido gálico/100g (Tabela 17). O que indica um valor elevado em relação a outros alimentos e também se refere à atividade antioxidante presente no alimento.

Tabela 17. Valores de polifenóis totais para méis “in natura” das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*.

| Polifenóis Totais mg/100g | | | | |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Espécie | <i>A. mellifera</i> | <i>M. flavolineata</i> | <i>M. fasciculata</i> | Legislação Brasileira |
| Localidade | | | | |
| Tracuateua | 68,25 ^b (±3,64) | 26,39 ^a (±2,44) | 25,53 ^a (±0,94) | Não indica |
| São João de Pirabas | 138,25 ^c (±3,92) | 236,71 ^c (±0,61) | 88,81 ^d (±1,40) | |
| Nova Timboteua | 121,72 ^c (±3,82) | 58,59 ^b (±1,22) | 62,21 ^c (±1,81) | |
| São Miguel do Guamá | 154,28 ^c (±2,44) | --- | 59,78 ^b (±1,74) | |
| Vigia | 36,68 ^a (±1,65) | 56,78 ^b (±0,78) | --- | |

M: média; SD: desvio padrão;

---: não analisados

Letras verticais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As amostras coletadas no município de Vigia atingiram as menores concentrações com valor médio de $36,6 \pm 0,01$ mg /100g, as regiões de São João de Pirabas, São Miguel do Guamá e Vigia não obtiveram variação significativa com média de 138 mg/100g.

Para méis de melipona (Figura 22) o valor de polifenóis totais extraídos 25,6 a 236,8 mg/100 g. Sendo que as amostras de *M. flavolineata* do município de São João de Pirabas obtiveram o maior valor médio de $23,67 \pm 0,01$ mg/100 g e com menor valor, *M. fasciculata* com $25,53 \pm 0,32$ mg/100 g. Méis de *M. flavolineata* obtiveram valor médio de 26,39 mg/100 g, 58,59 mg/100 g e 56,78 mg/100 g para as regiões de Tracuateua, Nova Timboteua e Vigia, respectivamente. Os méis de *M. fasciculata* obtiveram valor médio de 88,81 mg/100 g, 62,21 mg/100 g e 59,78 mg/100 g para os municípios de São João de Pirabas, Nova Timboteua e São Miguel do Guamá, respectivamente. Os méis de abelha com ferrão possuem, normalmente, maior concentração de polifenóis totais que os méis de meliponíneo.

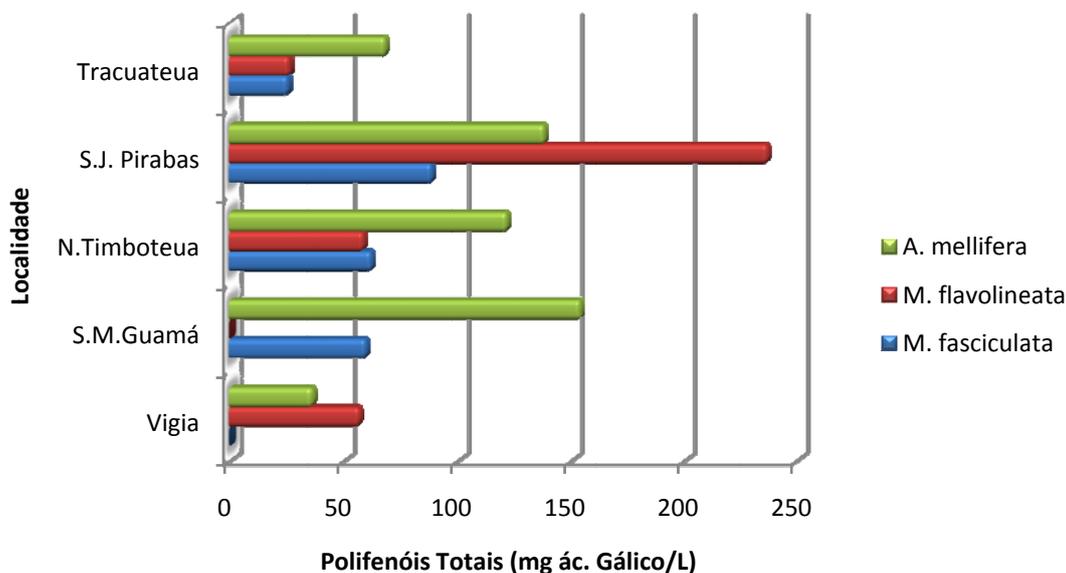


Figura 22. Valores de polifenóis totais dos méis das espécies *A. mellifera*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*

Socha et al.(2009) encontraram para méis de *A. mellifera* valores de 21,7 a 75,3 mg/100g. O teor em compostos fenólicos encontrado por Serra (2005), apresentou valores entre 48 e 207 mg ácido gálico/100g de amostras de diferentes origens florais. Al-Mamary et al.(2002), obtiveram para méis de *A. mellifera* de diferentes localidades,

conteúdo de polifenóis totais variando de 53,52 a 246,21 mg/100g, valores semelhantes aos obtidos por este trabalho. Ferreira et al.(2009), pesquisaram o conteúdo de polifenóis totais presentes em méis de Portugal e encontrou variação de 22,6 a 72,7 mg/100g. Lianda (2009) obteve para méis de *A. mellifera* teores totais de fenóis variando de 34 a 78,2 mg de ácido gálico/100g de mel.

4.2. Análise Estatística Multivariada

A análise de Componentes Principais (PCA- do inglês Principal Component Analysis) mostrou que os quatro eixos principais representaram 60,34%, 27,78%, 12,99% e 10,48% do total da variância, respectivamente. A parcela estabelecida de acordo com os eixos da PCA (Figura 23) sugere a existência de quatro grupos de espécies de abelhas.

A seguir estão representadas as análises de componentes principais (PCA):

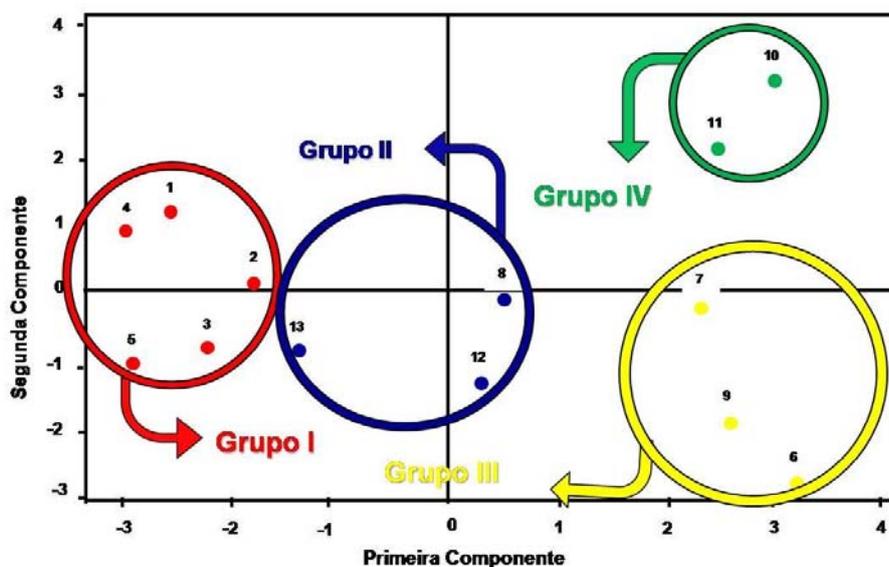


Figura 23. Scores para amostras de méis de *A. mellifera* e meliponíneos.

(1) *A. mellifera* Tracuateua; (2) *A. mellifera* São João de Pirabas; (3) *A. mellifera* Nova Timboteua; (4) *A. mellifera* São Miguel do Guamá; (5) *A. mellifera* Vigia; (6) *M. flavolineata* Tracuateua; (7) *M. flavolineata* São João de Pirabas; (8) *M. flavolineata* Nova Timboteua; (9) *M. flavolineata* Vigia; (10) *M. fasciculata* Tracuateua; (11) *M. fasciculata* São João de Pirabas; (12) *M. fasciculata* Nova Timboteua; (13) *M. fasciculata* São Miguel do Guamá.

O gráfico dos loadings na Figura 24 mostra a influência das variáveis sobre as amostras.

O comportamento distinto apresentado pelas amostras de mel da espécie *A. mellifera*, ou seja, a discriminação da composição físico-química destas amostras em relação às amostras das demais espécies foi causada, principalmente, pela concentração de acidez e atividade diastásica, pois as amostras de mel provenientes da espécie *A. mellifera*, de todos os municípios estudados, apresentam as maiores concentrações de acidez e atividade diastásica em relação às demais amostras. Já as amostras de mel provenientes da espécie de meliponíneos coletados no município de Nova Timboteua e *M. fasciculata* de São João de Pirabas, tiveram caráter distintivo devido ao maior teor de HMF apresentado. As amostras da espécie *M. flavolineata* agruparam devido ao teor de umidade, que nesta espécie são elevados. O grupo das espécies de *M. fasciculata* apresentou os maiores teores de sacarose, comparado às demais espécies deste estudo.

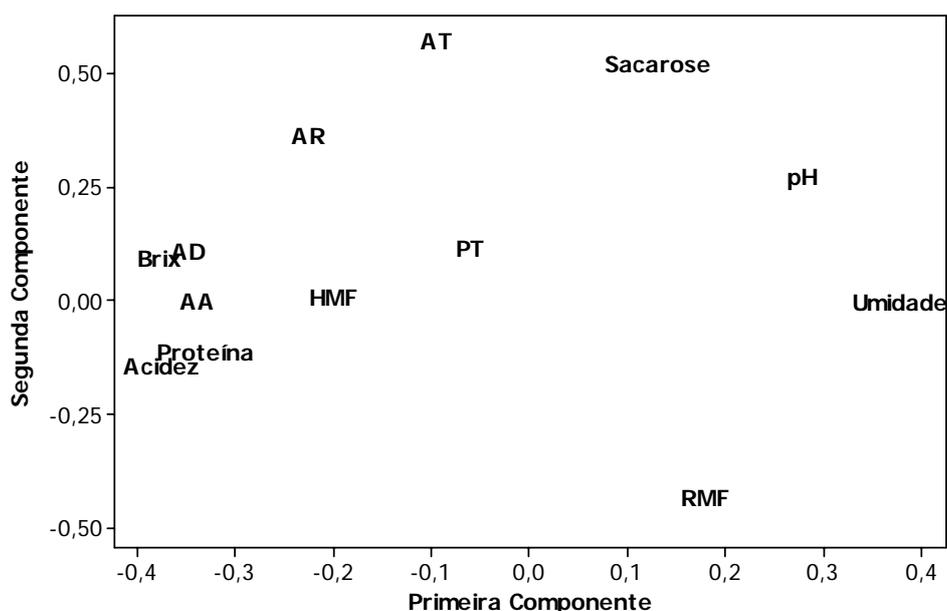


Figura 24. Loadings para méis amostras de méis de *A. mellifera* e meliponíneos.

(AT) Açúcares Totais; (AR) Açúcares Redutores; (HMF) Hidroximetilfurfural; (PT) Polifenóis Totais; (AD) Atividade Diastásica; (AA) Ácido Ascórbico; (RMF) Resíduo Mineral Fixo.

As tendências observadas através da análise de componentes principais (PCA) foram confirmadas através do dendograma obtido pela HCA (Figura 25).

O grupo I, integrado pela espécie *A. mellifera*, possui similaridade de 72,57 a 40%. O grupo II é representado pelas espécies *M. flavolineata* e *M. fasciculata* da

região de Nova Timboteua e *M. fasciculata* da região de São Miguel do Guamá com similaridades correspondentes 49,69% e 68,48%, respectivamente. O grupo III, integrado pela espécie *M. flavolineata*, possui similaridade de 66,95 a 33,17%. O grupo IV é formado pela espécie *M. fasciculata* com similaridade de 57,15%.

A estrutura geral do dendograma produzido pelo método Ward de agrupamento hierárquico, baseado na distância euclidiana entre as populações, mostra o agrupamento das treze populações para os mesmos quatro principais pólos. Esta análise também enfatiza o caráter distintivo das espécies de abelhas sem ferrão da região de Nova Timboteua.

A seguir estão representadas as análises de agrupamento hierárquico (HCA):

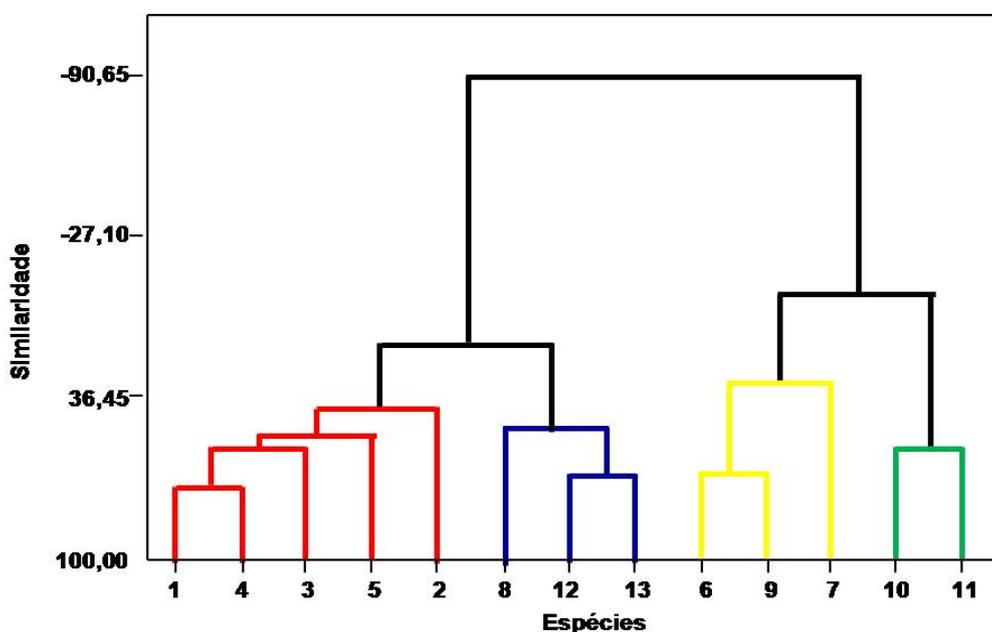


Figura 25. Dendograma para amostras de méis de *A. mellifera* e meliponíneos.

(1) *A. mellifera* Tracuateua; (2) *A. mellifera* São João de Pirabas; (3) *A. mellifera* Nova Timboteua; (4) *A. mellifera* São Miguel do Guamá; (5) *A. mellifera* Vigia; (6) *M. flavolineata* Tracuateua; (7) *M. flavolineata* São João de Pirabas; (8) *M. flavolineata* Nova Timboteua; (9) *M. flavolineata* Vigia; (10) *M. fasciculata* Tracuateua; (11) *M. fasciculata* São João de Pirabas; (12) *M. fasciculata* Nova Timboteua; (13) *M. fasciculata* São Miguel do Guamá

Nem PCA nem HCA mostraram uma clara relação linear entre as origens geográficas das espécies e seu padrão de agrupamento, exceto para os méis de *M. flavolineata* e *M. fasciculata* da região de Nova Timboteua. Assim, pode ser inferido que a distribuição geográfica das espécies poderia ser explicada como resultado do efeito da diversidade botânica nesta mesorregião e que o agrupamento por espécie deve-se a diferença no perfil físico-químico característico dos méis de cada espécie.

4.3. Isolamento de marcadores químicos por HPLC- UV em méis de *Apis mellifera*, *Melipona flavolineata* e *Melipona fasciculata*.

Para análise do perfil cromatográfico dos méis foram otimizadas as condições cromatográficas com padrões de ácidos fenólicos e flavonóides (Figura 26), para posterior comparação dos tempos de retenção obtidos por cada amostra de mel coletadas pelas espécies em estudo em diferentes localidades do Estado do Pará.

A figura abaixo mostra o cromatograma da solução metanólica da mistura dos onze padrões utilizados neste estudo.

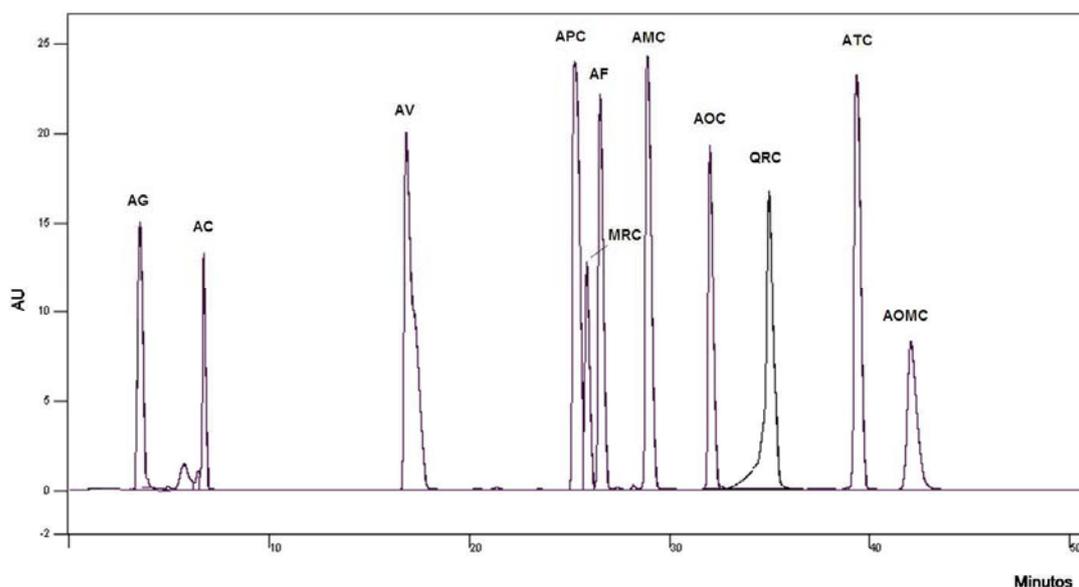


Figura 26. Perfil cromatográfico da mistura dos padrões de ácidos fenólicos e flavonóides à 290 nm.

Os ácidos fenólicos são: (AG) ácido gálico, (AC) ácido cafeico, (AV) ácido vanílico, (APC) ácido p-cumárico, (AF) ácido ferulico, (AMC) ácido m-cumárico (AOC) ácido o-cumárico (ATC) ácido trans-cinâmico e (AOMC) ácido o-metoxinâmico. Os flavonóides são: (MRC) Mircetina e (QRC) Quercetina.

4.3.1. Compostos fenólicos em méis de *Apis mellifera*.

Os cromatogramas das amostras de *A. mellifera*, mostram que os méis coletados nas diferentes regiões do Estado possuem como ácido fenólico principal, majoritário, o ácido gálico (Figura 27).

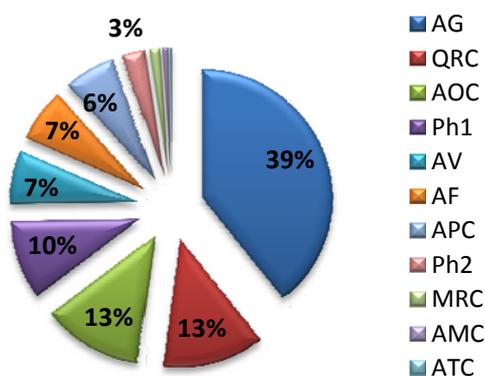


Figura 27. Percentual de compostos fenólicos em mel de *A. mellifera*

Para os méis coletados na região de Tracuateua houve maior representatividade o ácido gálico com 35%, como mostra a Figura 28. **Erro! Fonte de referência não encontrada.:**

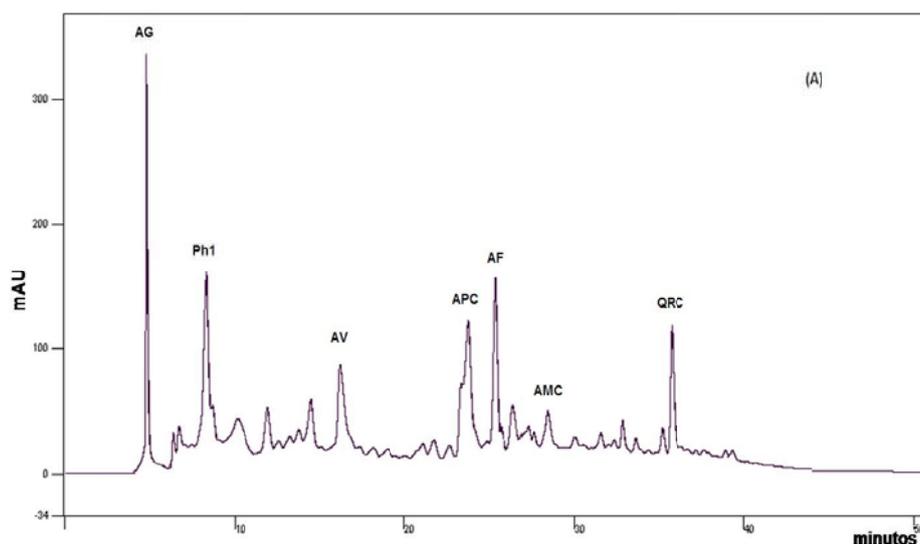


Figura 28. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *A. mellifera* da região de Tracuateua, através de RP-HPLC à 290nm.

(A) *A. mellifera*, região de Tracuateua - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, Ph₁, (AV) ácido vanílico, (APC) ácido p-cumárico, (AF) ácido ferúlico, (AMC) ácido m-cumárico (QRC) flavonóide quercetina, *Ph-ácido fenólico desconhecido

Os ácidos p-cumárico, ferrúlico, ácido desconhecido (Ph₁) e flavonóide quercetina são considerados compostos secundários e estão presentes na matriz com 11,1% 15,7%, 15,5% e 11,2%, respectivamente. Os demais ácidos fenólicos presentes nos méis analisados obtiveram porcentagem baixa em relação à proporção total de ácidos fenólicos com valores de 8% para ácido vanílico e 0,98% para ácido m-cumárico. A presença de ácido gálico juntamente com ácido p-cumárico, ácido ferrúlico e quercetina é uma característica do mel de *A. mellifera* da região de Tracuateua podendo ser usada como marcador químico de origem geográfica.

Os méis da região de São João de Pirabas possuem como compostos fenólicos principais o flavonóide quercetina e os ácidos gálico e o-cumárico (Figura 29). O flavonóide quercetina representa 33,4%, enquanto os ácidos o-cumárico, e gálico representam 29,8% e 24,5 % do total de ácidos fenólicos, respectivamente. O ácido ferrúlico, os ácidos fenólicos desconhecidos (Ph₁, Ph₂) e o ácido trans-cinâmico estão presentes em pequenas quantidades. Estes três compostos fenólicos representam 87,7% do total de fenólicos presentes, este perfil fenólico é característico dos méis desta região, sugerindo que podem ser considerados marcadores químicos para este tipo de mel.

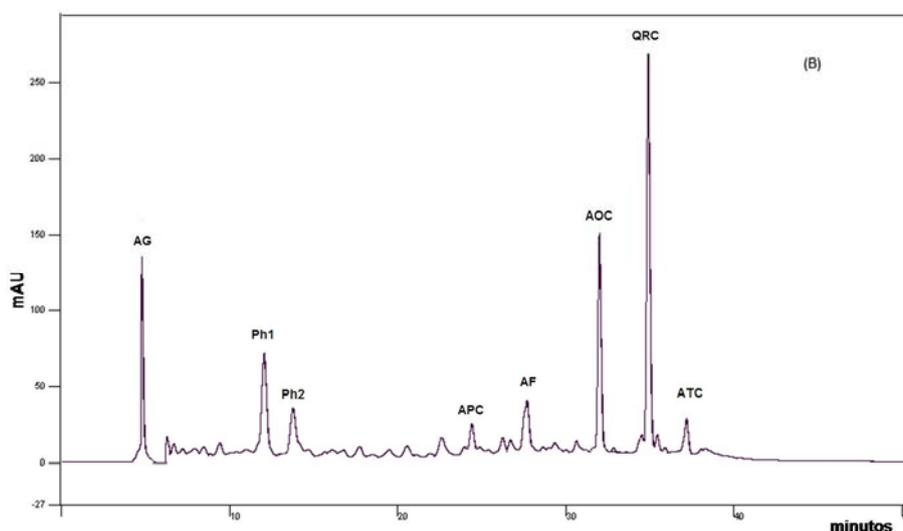


Figura 29. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *A. mellifera* da região de São João de Pirabas, através de RP-HPLC à 290nm.

(B) *A. mellifera*, região de São João de Pirabas - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, Ph₁, Ph₂ (APC) ácido p-cumárico, (AF) ácido ferúlico, (AOC) ácido o-cumárico, (QRC) flavonóide quercetina, (ATC) ácido trans-cinâmico, *Ph-ácido fenólico desconhecido

Os méis coletados em Nova Timboteua são compostos de 45,8% de ácido gálico e 20,9% de ácido p-cumárico como componentes principais (Figura 30), enquanto o

ácido desconhecido (Ph₁) e o flavonóide quercetina são os compostos fenólicos secundários com 19,3% e 16,4%, respectivamente.

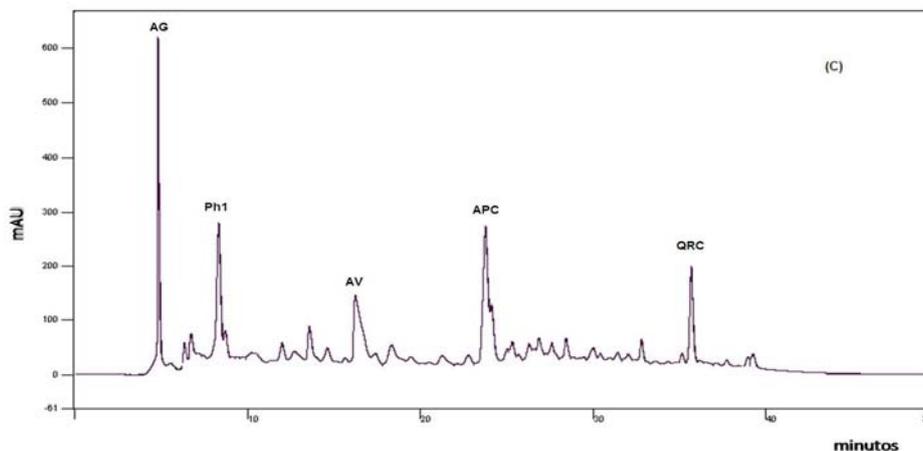


Figura 30. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *A. mellifera* da região de Nova Timboteua, através de RP-HPLC à 290nm.

(C) *A. mellifera*, região de Nova Timboteua - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, Ph₁, (AV) ácido vanílico, (APC) ácido p-cumárico, (QRC) flavonóide quercetina, *Ph-ácido fenólico desconhecido.

Os méis da região de São Miguel do Guamá apresentaram como ácido fenólico principal o ácido gálico com 69,7% (Figura 31). O ácido fenólico desconhecido (Ph₁), o ácido p-cumárico e o flavonóide miricetina apresentaram 10,3%, 4,1% e 1,7%, respectivamente. A presença do flavonóide miricetina diferencia o mel desta região dos méis coletados nas demais regiões, sendo juntamente com o ácido gálico, marcador químico do mel da espécie *A. mellifera* da região de São Miguel do Guamá.

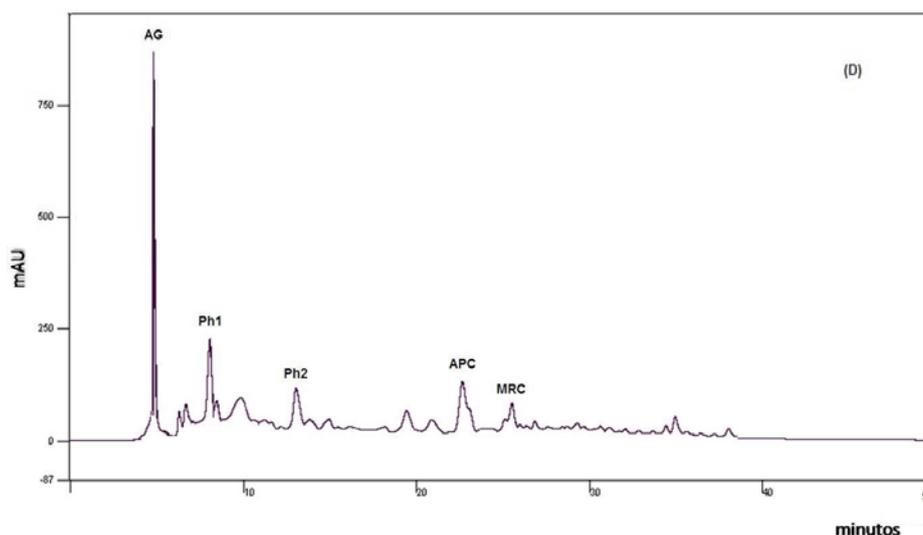


Figura 31. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *A. mellifera* da região de São Miguel do Guamá, através de RP-HPLC à 290nm.

(D) *A. mellifera*, região de São Miguel do Guamá - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, Ph₁, Ph₂, (APC) ácido p-cumárico, (MRC) flavonóide miricetina, *Ph-ácido fenólico desconhecido.

No município de Vigia, os méis coletados obtiveram como ácido fenólico principal o ácido gálico com 79,6% (Figura 32). Os ácidos p-cumárico, o-cumárico e trans-cinâmico, além do flavonóide quercetina obtiveram valores que correspondem a 5,3%, 2,8%, 0,6% e 5,7%, respectivamente. A presença do ácido trans-cinâmico e a alto teor de ácido gálico presente nos méis desta região podem indicar estes compostos como marcadores químicos de origem botânica e geográfica.

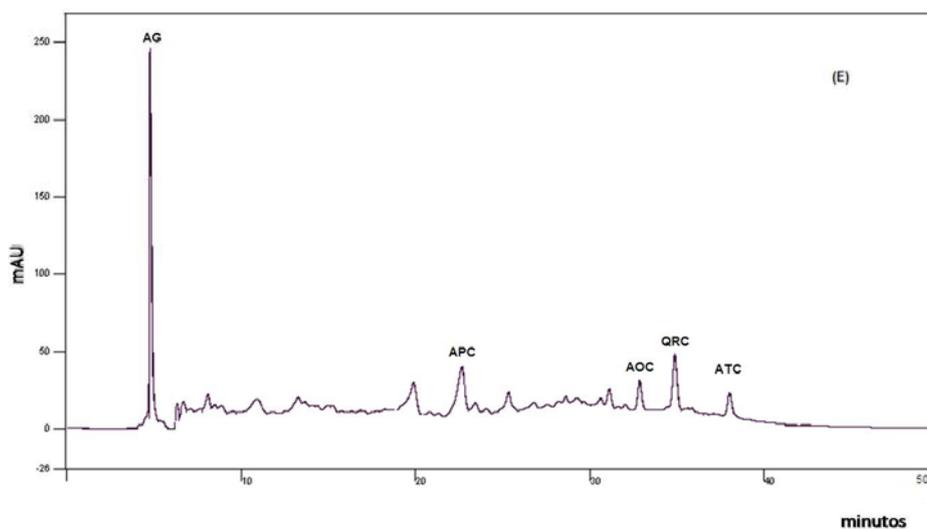


Figura 32. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *A. mellifera* da região de Vigia, através de RP-HPLC à 290nm.

(D) *A. mellifera*, região de Vigia - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, (APC) ácido p-cumárico, (AOC) ácido o-cumárico, (QRC) flavonóide quercetina, (ATC) ácido trans-cinâmico, *Ph-ácido fenólico desconhecido

A Tabela 18 mostra os teores individuais para os ácidos fenólicos e flavonóides identificados nos extratos metanólicos das amostras de mel coletadas pela espécie *A. mellifera* obtido de diversos municípios do Estado do Pará.

Tabela 18. Ácidos fenólicos presentes em méis de *A. mellifera* (africanizada)

| Amostras | Ácidos fenólicos ^a (%) ^b | | | | | | | | | | |
|----------------|--|-----------------|-----------------|-----|------|-----|------|------|------|------|-----|
| | AG | Ph ₁ | Ph ₂ | AV | APC | MRC | AF | AMC | AOC | QRC | ATC |
| Tracuateua | 35,0 | 15,5 | - | 8,0 | 11,1 | - | 15,7 | 0,98 | - | 11,2 | - |
| S.J. Pirabas | 24,5 | 6,1 | 3,4 | - | 0,7 | - | 1,9 | - | 29,8 | 33,4 | 0,2 |
| Nova Timboteua | 45,8 | 19,3 | - | 9,7 | 20,9 | - | - | - | - | 16,4 | - |
| S.M. Guamá | 69,7 | 10,3 | 3,8 | - | 4,1 | 1,7 | - | - | - | - | - |
| Vigia | 79,6 | - | - | - | 5,3 | - | - | - | 2,8 | 5,7 | 0,6 |

^a AG- ácido gálico, Ph₁ e Ph₂- ácido fenólico desconhecido, APC- ácido p-cumárico, MRC- miricetina, AF- ácido ferrúlico, AMC- ácido m-cumárico, AOC- ácido o-cumárico, QRC- quercetina

^b Porcentagem individual dos ácidos fenólicos em relação ao total de ácidos fenólicos.
- ácidos não encontrados nas amostras de mel das espécies analisadas

4.3.2. Compostos fenólicos em méis de *Melipona flavolineata*.

Na análise por cromatografia líquida dos méis da espécie *M. flavolineata* (Figura 33) observou-se presença predominante de ácido gálico e quercetina como principais compostos fenólicos presentes.

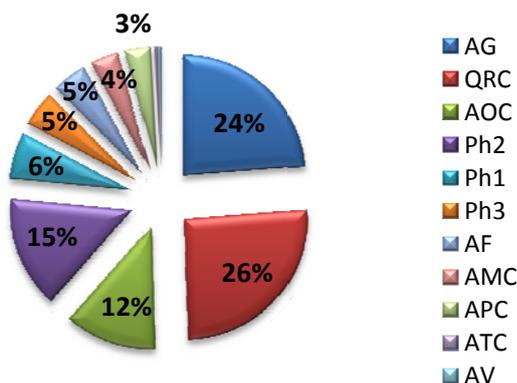


Figura 33. Percentual de compostos fenólicos em mel de *M. flavolineata*

Em méis coletados no município de Tracuateua o flavonóide quercetina apresentou 67,8% do total de compostos fenólicos presentes, seguido pelos ácidos gálico e o-cumárico como componentes secundários com 13,9% e 16,5%, respectivamente. Os demais ácidos fenólicos, ácido m-cumárico e o-cumárico, são encontrados em pequenas quantidades. Isto pode ser visto na Figura 34.

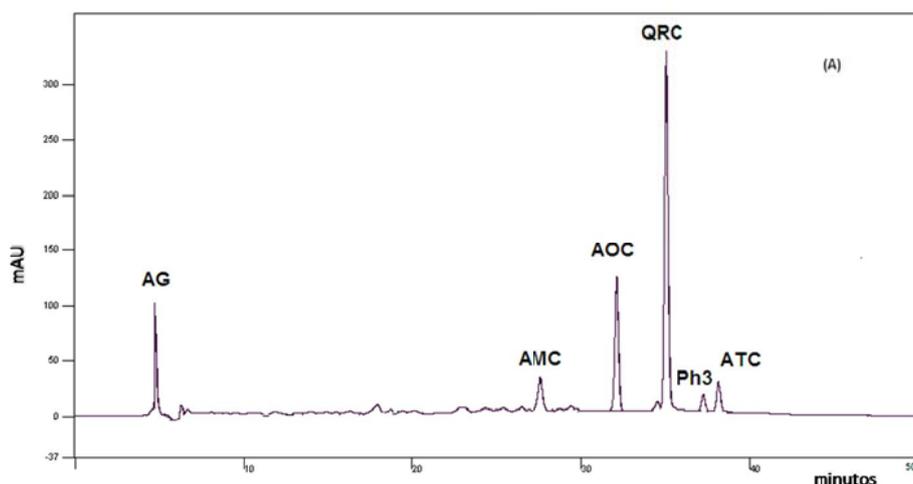


Figura 34. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *M. flavolineata* da região de Tracuateua, através de RP-HPLC à 290nm.

(A) *M. flavolineata*, região de Tracuateua - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, (AMC) ácido m-cumárico, (AOC) ácido o-cumárico, (QRC) flavonóide quercetina, Ph₃, (ATC) ácido trans-cinâmico, *Ph-ácido fenólico desconhecido

Este perfil de fenólicos é característico nos méis de *M. flavolineata* podendo ser usado como marcador para origem botânica e geográfica. Em relação aos méis de *A. mellifera* coletados nesta mesma região, observou-se diferença na composição do perfil fenólico, que obteve como composto fenólico dominante o ácido gálico. Isto ocorre, devido à possível preferência destas espécies por origens botânicas diferentes.

O perfil de compostos fenólicos de méis da região de São João de Pirabas, mostrado na Figura 35, é dominado pelos compostos fenólicos quercetina, ácido gálico e ácido o-cumárico, semelhante ao encontrado em méis da espécie *A. mellifera* da mesma região.

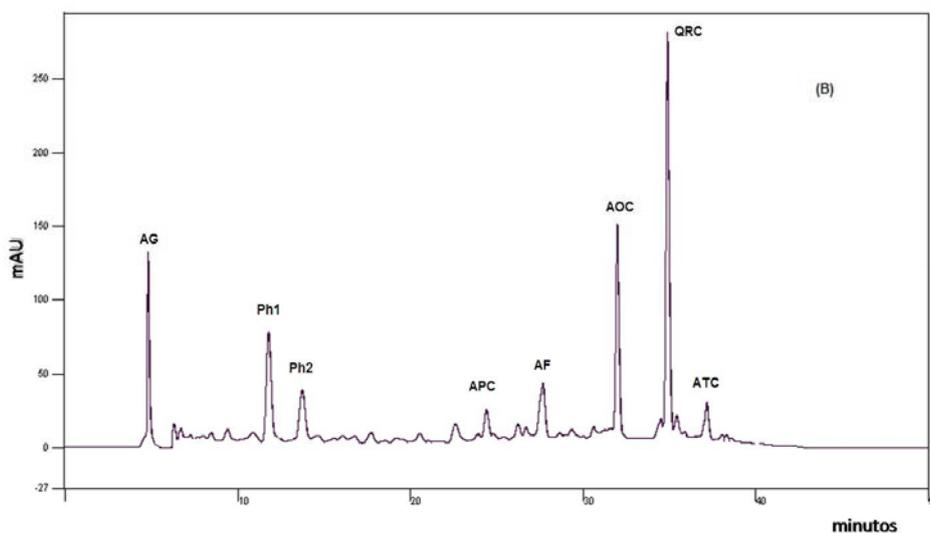


Figura 35. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *M. flavolineata* da região de São João de Pirabas, através de RP-HPLC à 290nm.

(B) *M. flavolineata*, região de São João de Pirabas - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, Ph₁, Ph₂ (APC) ácido p-cumárico, (AF) ácido ferúlico, (AOC) ácido o-cumárico, (QRC) flavonóide quercetina, (ATC) ácido trans-cinâmico, *Ph-ácido fenólico desconhecido

O flavonóide quercetina representa 31,3%, enquanto o ácido gálico e o-cumárico compõe 23,8% e 23,6 % do total de compostos fenólicos, respectivamente. O ácido p-cumárico, ferúlico, trans-cinâmico e os ácidos fenólicos desconhecidos (Ph₁ e Ph₂) também estão presentes, porém, em pequenas quantidades representando 21,3% do total de fenólicos. A composição fenólica de méis desta região indica estes compostos como marcadores químicos potenciais para identificação de origem botânica e geográfica.

O perfil fenólico dos méis da região de Nova Timboteua apresentou como compostos fenólicos predominantes o ácido gálico e o flavonóide quercetina com 30,1% e 32,6%, respectivamente (Figura 36).

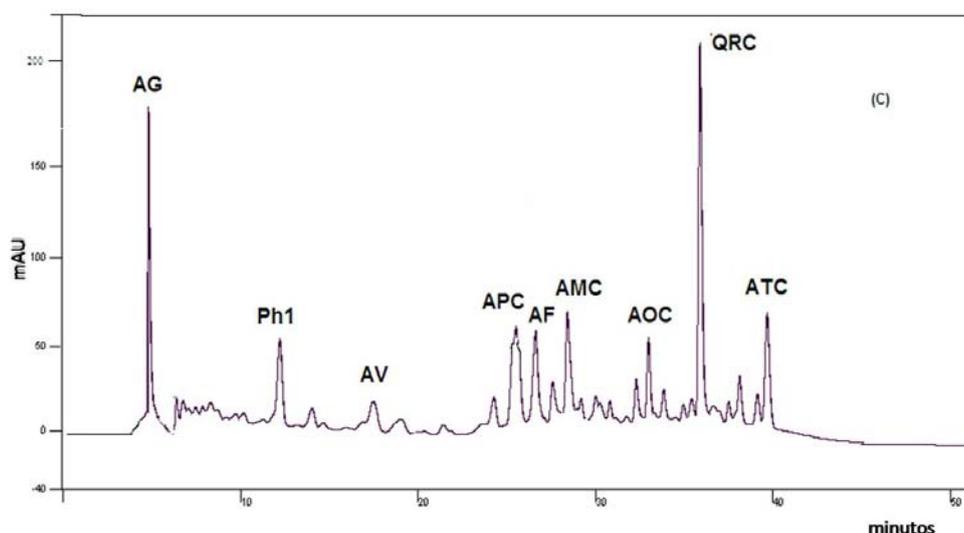


Figura 36. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *M. flavolineata* da região de Nova Timboteua, através de RP-HPLC à 290nm.

(C) *M. flavolineata*, região de Nova Timboteua - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, Ph₁, (AV) ácido vanílico, (APC) ácido p-cumárico, (AF) ácido ferúlico, (AMC) ácido m-cumárico, (AOC) ácido o-cumárico, (QRC) flavonóide quercetina, (ATC) ácido trans-cinâmico, *Ph-ácido fenólico desconhecido

Os ácidos p-cumárico, ferúlico, m-cumárico, o-cumárico e trans-cinâmico variam de 6 a 7% em sua composição individual. Os ácidos vanílico e ácido fenólico desconhecido (Ph₁) estão presentes com baixos teores, representando 5,5% do total de compostos fenólicos. Comparado ao perfil fenólico obtido em méis de *A. mellifera* desta região, observa-se que apesar dos compostos predominantes nestes méis serem os mesmos, os méis coletados por abelhas da espécie *M. flavolineata* apresentam maior variedade de compostos fenólicos, demonstrando, assim, a preferência diferenciada de origem botânica.

No município de Vigia, os méis coletados obtiveram como ácido fenólico principal o ácido gálico com 34,2% e o flavonóide quercetina com 30,4%. Os ácidos p-cumárico, o-cumárico e os ácidos fenólicos desconhecidos (Ph₁, Ph₂ e Ph₃) valores inferiores de 3,6%, 5,8 % e 13,2%, respectivamente (Figura 37).

O perfil fenólico destes méis caracteriza estes compostos como possíveis marcadores de origem botânica e geográfica. As espécies *A. mellifera* e *M. flavolineata* desta região diferenciam-se em relação à espécie botânica visitada, devido a diferença significativa na quantidade de compostos fenólicos presentes no perfil cromatográfico dos méis analisados.

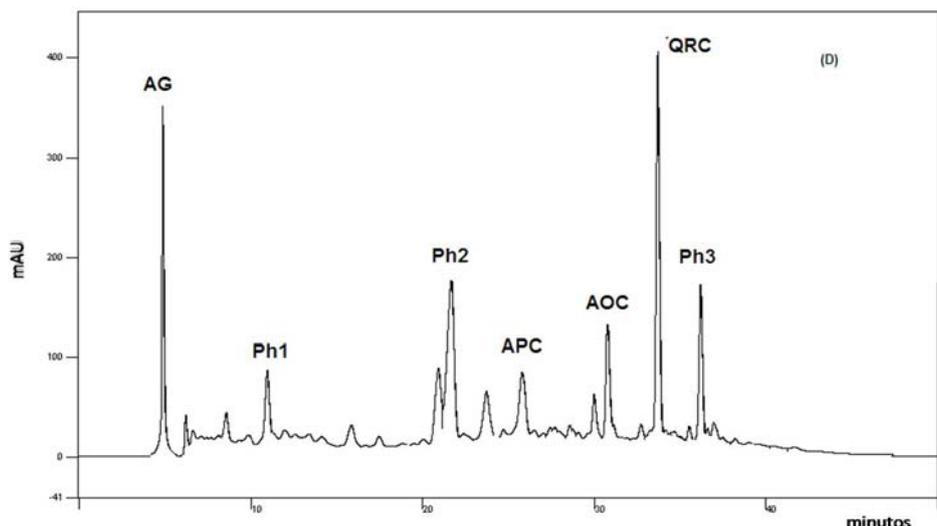


Figura 37. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *M. flavolineata* da região de Vigia, através de RP-HPLC à 290nm.

(D) *M. flavolineata*, região de Vigia - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, Ph₁, Ph₂ (APC) ácido p-cumárico, (AOC) ácido o-cumárico, (QRC) flavonóide quercetina, Ph₃. *Ph-ácido fenólico desconhecido

A Tabela 19 mostra os teores individuais para os ácidos fenólicos e flavonóides identificados nos extratos metanólicos das amostras de mel coletadas pela espécie *M. flavolineata* obtido de diversos municípios do Estado do Pará.

Tabela 19. Ácidos fenólicos presentes em méis de *M. flavolineata* (uruçu-amarela)

| Amostras | Ácidos fenólicos ^a (%) ^b | | | | | | | | | | |
|----------------|--|-----------------|-----------------|-----|------|-----|-----|------|------|-----------------|-----|
| | AG | Ph ₁ | Ph ₂ | AV | APC | AF | AMC | AOC | QRC | Ph ₃ | ATC |
| Tracuateua | 13,9 | - | - | - | - | - | 1,3 | 16,5 | 0,5 | 0,1 | 0,5 |
| S. J. Pirabas | 23,8 | 12,1 | 4,3 | - | 0,53 | 4,1 | - | 23,6 | 31,3 | - | - |
| Nova Timboteua | 30,1 | 5,1 | - | 0,4 | 6,4 | 5,9 | 6,8 | 5,8 | 32,6 | - | - |
| Vigia | 34,2 | 2,9 | 10,3 | - | 3,6 | - | - | 5,8 | 30,4 | 10,1 | - |

^a AG- ácido gálico, Ph₁, Ph₂, Ph₃- ácido fenólico desconhecido, APC- ácido p-cumárico, MRC- mircetina, AF- ácido ferrúlico, AMC- ácido m-cumárico, AOC- ácido o-cumárico, QRC- quercetina

^b Porcentagem individual dos ácidos fenólicos em relação ao total de ácidos fenólicos.

- ácidos não encontrados nas amostras de mel das espécies analisadas

4.3.3. Compostos fenólicos em méis de *Melipona fasciculata*.

Os perfis cromatográficos das amostras de *M. fasciculata* indicam como compostos fenólicos principais, obtidos nas regiões de São João de Pirabas, Nova Timboteua e na região de Tracuateua, os ácidos ácido gálico, o-cumárico e o flavonóide quercetina, o ácido gálico e flavonóide quercetina e apenas o ácido desconhecido (Ph₁) como composto fenólico predominante, respectivamente (Figura 38).

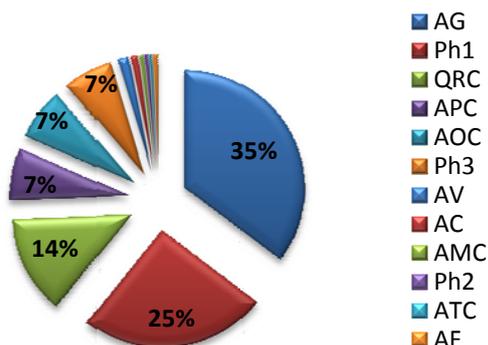


Figura 38. Percentual de compostos fenólicos em mel de *M. fasciculata*

Para os méis coletados na região de Tracuateua, o ácido gálico apresentou um teor de 80,7%. O ácido vanílico e o flavonóide quercetina obtiveram teores inferiores em relação à proporção total de compostos fenólicos presentes com valores de 6,3% para ácido vanílico e 12% para o flavonóide quercetina (Figura 39).

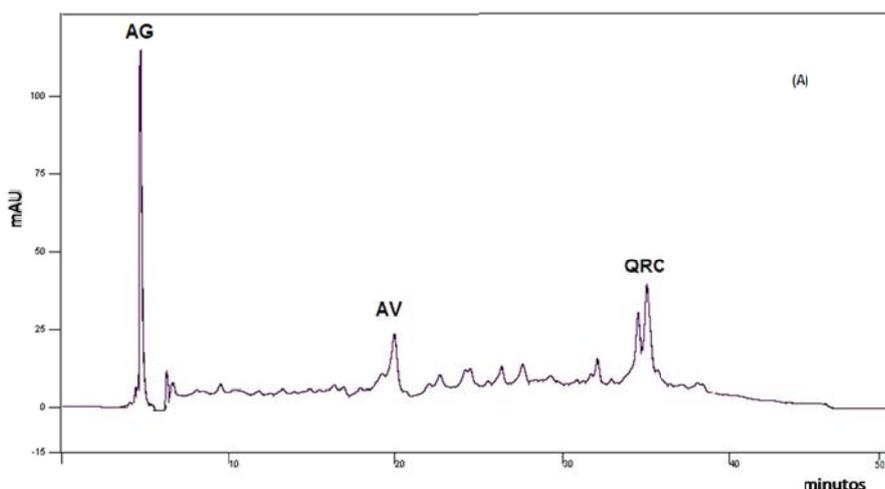


Figura 39. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *M. fasciculata* da região de Tracuateua, através de RP-HPLC à 290nm.

(A) *M. fasciculata*, região de Tracuateua - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, Ph₁, Ph₂, (APC) ácido p-cumárico, (AOC) ácido o-cumárico, (QRC) flavonóide quercetina, Ph₃. *Ph-ácido fenólico desconhecido

O perfil cromatográfico indica a presença de apenas três compostos fenólicos, sendo ácido gálico predominante, caracterizando os méis de *M. flavolineata* desta região, podendo seus componentes fenólicos ser considerados marcadores químicos potenciais. A espécie *A. mellifera* desta região também apresenta como composto fenólico principal o ácido gálico, apenas a espécie *M. flavolineata* possui característica diferenciada, sendo o ácido gálico componente secundário.

Os méis da região de São João de Pirabas possuem como compostos fenólicos principais os ácidos gálico e flavonóide quercetina (Figura 40). O ácido gálico representa 39,2%, enquanto a quercetina apresenta teor de 26,7% do total de compostos fenólicos. O ácido p-cumárico, ferrúlico, o-cumárico e o ácido fenólico desconhecido (Ph₁) estão presentes em pequenas quantidades 14,8%, 1,1 %, 16,9% e 1,3%, respectivamente. As espécies *A. mellifera* e *M. flavolineata* desta região apresentam características semelhantes, diferenciando-se apenas no percentual individual dos compostos fenólicos predominantes, podendo ser usado com o marcador de origem botânica e geográfica.

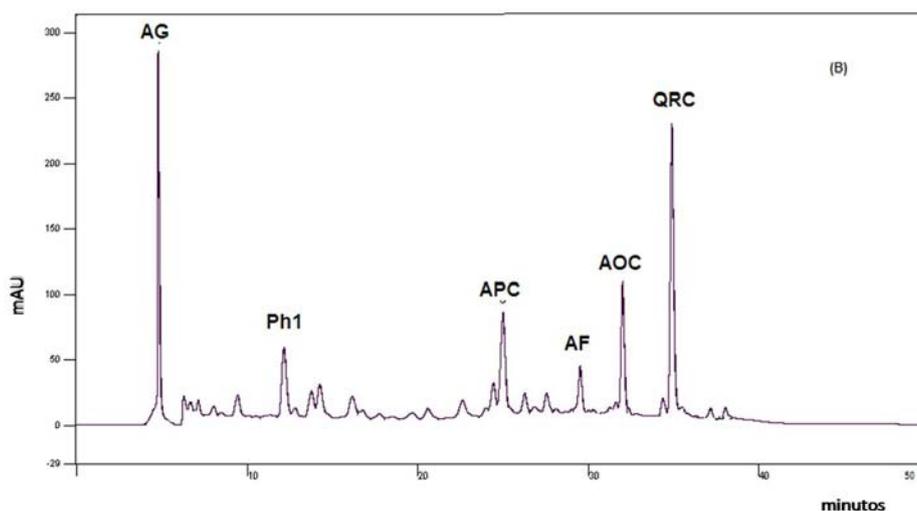


Figura 40. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *M. fasciculata* da região de São João de Pirabas, através de RP-HPLC à 290nm.

(B) *M. fasciculata*, região de São João de Pirabas - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, Ph₁, (APC) ácido p-cumárico, (AF) ácido ferúlico, (AOC) ácido o-cumárico, (QRC) flavonóide quercetina. *Ph-ácido fenólico desconhecido

Os compostos fenólicos dominantes encontrados em méis de Nova Timboteua foram o ácido gálico com 27,6%, ácido fenólico desconhecido (Ph₃) com 27,5% e quercetina com 18,0%. Como compostos secundários estão os ácidos p-cumárico e ácido desconhecido (Ph₁) com 5,4% e 7,3%, respectivamente. Os demais ácidos

possuem baixos valores em relação ao total de compostos fenólicos, sendo estes: ácido cafeico, ácido desconhecido (Ph₂), ácido ferúlico, ácido m-cumárico, ácido o-cumárico, e ácido trans-cinâmico (Figura 41).

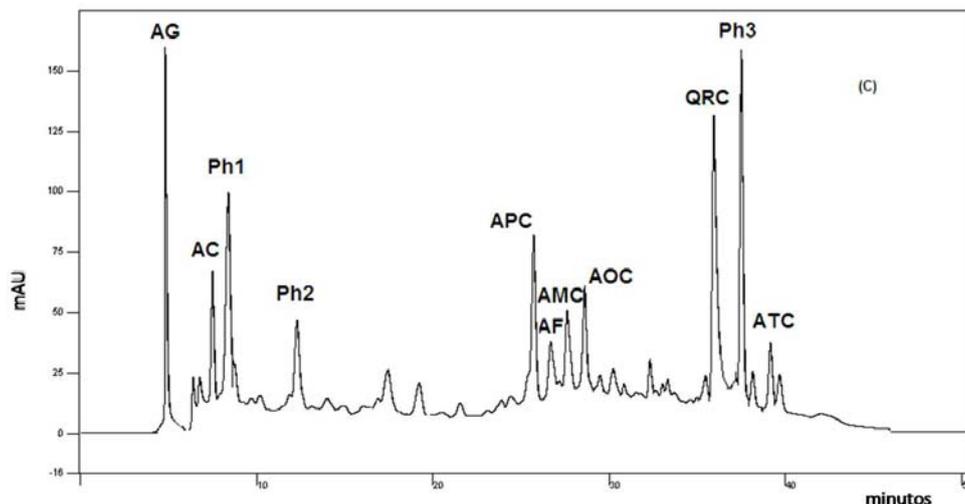


Figura 41. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *M. fasciculata* da região de Nova Timboteua, através de RP-HPLC à 290nm.

(C) *M. fasciculata*, região de Nova Timboteua - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico, (AC) ácido cafeico, Ph₁, Ph₂, (APC) ácido p-cumárico, (AF) ácido ferúlico, (AMC) ácido m-cumárico, (AOC) ácido o-cumárico, (QRC) flavonóide quercetina, Ph₃, (ATC) ácido trans-cinâmico. *Ph-ácido fenólico desconhecido

Os méis de *A. mellifera* e *M. flavolineata* também apresentaram como composto fenólico principal o ácido gálico, entretanto, diferenciam-se pela quantidade de compostos fenólicos presentes no perfil cromatográfico de cada espécie, além de compostos fenólicos específicos, como a presença do ácido cafeico apenas em méis de *M. fasciculata*. Esta região apresenta-se com grande diversidade botânica o que justifica a diferença nos perfis fenólicos de cada espécie. Esta característica indica estes compostos fenólicos como possíveis marcadores de origem botânica.

Os méis da região de São Miguel do Guamá apresentaram como composto fenólico identificado apenas o ácido gálico com 2% do total de compostos fenólicos (Figura 42). O composto fenólico principal foi o ácido desconhecido (Ph₁) com 97,8%. Os méis da espécie *A. mellifera* apresentaram maior variedade de compostos tendo como principal componente o ácido gálico com 69,7%.

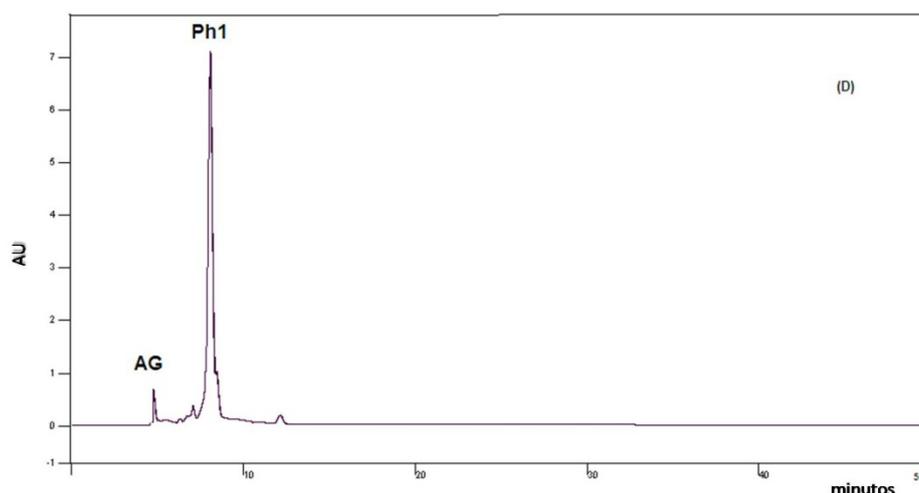


Figura 42. Cromatograma obtido para ácidos fenólicos e flavonóides em méis de *M. fasciculata* da região de São Miguel do Guamá, através de RP-HPLC à 290nm.

(D) *M. fasciculata*, região de São Miguel do Guamá - Os compostos fenólicos são: (AG) ácido gálico e Ph₁ *Ph-ácido fenólico desconhecido

A **Tabela 20** mostra os teores individuais para os ácidos fenólicos e flavonóides identificados nos extratos metanólicos das amostras de mel coletadas pela espécie *M. fasciculata* obtido de diversos municípios do Estado do Pará.

Tabela 20. Ácidos fenólicos presentes em méis de *M. fasciculata* (uruçu-cinzenta)

| Amostras | Ácidos fenólicos ^a (%) ^b | | | | | | | | | | | |
|----------------|--|-----|-----------------|-----------------|-----|------|-----|-----|------|------|-----------------|-----|
| | AG | AC | Ph ₁ | Ph ₂ | AV | APC | AF | AMC | AOC | QRC | Ph ₃ | ATC |
| Tracuateua | 80,7 | - | - | - | 6,3 | - | - | - | - | 12,2 | - | - |
| S.J. Pirabas | 39,2 | - | 1,3 | - | - | 14,8 | 1,1 | - | 16,9 | 26,7 | - | - |
| Nova Timboteua | 27,6 | 4,0 | 7,3 | 2,2 | - | 5,4 | 0,8 | 2,3 | 3,0 | 18 | 27,5 | 1,6 |
| S.M. Guamá | 2,0 | - | 97,8 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

^a AG- ácido gálico, Ph₁ e Ph₂- ácido fenólico desconhecido, APC- ácido p-cumárico, MRC- mircetina, AF- ácido ferrúlico, AMC- ácido m-cumárico, AOC- ácido o-cumárico, QRC- quercetina

^b Porcentagem individual dos ácidos fenólicos em relação ao total de ácidos fenólicos.
- ácidos não encontrados nas amostras de mel das espécies analisadas

4.4. Atividade Antioxidante em méis de *Apis mellifera*, *Melipona flavolineata* e *Melipona fasciculata*.

Foi possível observar que os méis que apresentaram os melhores resultados foram aqueles que acompanharam os teores mais elevados de polifenóis totais e méis de coloração mais escura (Tabela 21). Seus compostos majoritários identificados por

cromatografia líquida foram, respectivamente, os ácidos gálico, o-cumárico e p-cumárico e o flavonóide quercetina.

Tabela 21. Valores de CE₅₀ (mg/100g) obtidos para os méis das espécies em estudo, bem como os teores totais de fenóis (mg de ácido gálico/ 100g mel) e cor.

| Localidade | Méis | <i>A. mellifera</i> | | | <i>M. flavolineata</i> | | | <i>M. fasciculata</i> | | |
|---------------------|------|---------------------|--------|------------------|------------------------|--------|------------------|-----------------------|-------|------------------|
| | | Cor* | PT | CE ₅₀ | Cor* | PT | CE ₅₀ | Cor* | PT | CE ₅₀ |
| Tracuateua | | A | 68,25 | 29,31 | AC | 26,39 | 48,92 | EAC | 25,53 | 54,43 |
| São João de Pirabas | | A | 138,25 | 9,13 | A | 236,71 | 6,85 | A | 88,81 | 15,58 |
| Nova Timboteua | | A | 121,72 | 10,24 | AC | 58,59 | 31,27 | AC | 62,21 | 29,92 |
| São Miguel do Guamá | | A | 154,28 | 8,87 | - | - | - | AC | 59,78 | 31,04 |
| Vigia | | AC | 36,68 | 41,76 | EAC | 56,78 | 32,03 | - | - | - |

- amostras não analisadas;

*- A- âmbar; AC- âmbar claro; EAC- extra âmbar claro

Os méis da espécie *A. mellifera* das regiões de São João de Pirabas, Nova Timboteua e São Miguel do Guamá mostraram melhor inibição do radical DPPH, tendo assim atividade antioxidante significativa em relação às demais espécies, exceto para méis de *M. flavolineata* da região de São João de Pirabas que obteve o melhor percentual de inibição com média de 6,85%.

Para méis de meliponíneos apenas as amostras coletadas no município de São João de Pirabas apresentaram melhores atividades antioxidantes.

Os méis da espécie *M. flavolineata* e *M. fasciculata* das regiões de N. Timboteua, S.M do Guamá e Vigia, apesar dos altos teores de polifenóis totais, tiveram os resultados menos significativos de CE₅₀.

Os polifenóis presentes em menor concentração também tiveram menor influência na atividade antioxidante dos méis, bem como a coloração variando do âmbar claro ao extra âmbar claro. A correlação entre a CE₅₀ e o conteúdo de fenólicos totais foi estatisticamente significativa, o coeficiente de correlação foi de 0,87.

Estevinho (2008), encontrou para CE₅₀ 27,24 mg/100mL em méis escuros e 68,17mg/100g em méis claros, valores semelhantes aos encontrados neste estudo, onde os méis mais escuros possuem melhores atividades antioxidantes. Méis analisados no Rio de Janeiro apresentaram concentração efetiva em 50% do total do efeito (CE₅₀) variando de 4,82 a 77,05% (Lianda et al., 2004). Lianda et al., (2009), obteve para méis de *A. mellifera* de regiões do Rio de Janeiro valores de CE₅₀ variando de 10,81 a 52,84 mg/100g. Os valores obtidos de CE₅₀ para méis multiflorais de diversas regiões de Burkina Faso variaram de 1,63 a 29,13 mg/ml (Meda et al.,2005).

5. CONCLUSÕES

- É possível concluir que o mel de abelhas indígenas sem ferrão possui diversas características diferenciadas do mel de *A. mellifera*, sendo de extrema importância a regulamentação de uma legislação para o controle de qualidade.
- Os méis coletados pela espécie *A. mellifera* apresentaram valores elevados de acidez.
- Os méis de meliponíneos apresentaram naturalmente elevados teores de umidade, quando comparado ao mel de *A. mellifera*.
- A metodologia oficial de atividade diastásica para mel de *A. mellifera* não foi eficiente para méis de meliponíneo.
- A concentração de polifenóis totais em mel de *A. mellifera* foi, na maioria dos municípios, superior quando comparados aos méis de meliponíneos, exceto para mel de *M. flavolineata* da região de São João de Pirabas que obteve a maior concentração de polifenóis totais com valor médio de 236,71 mg ácido gálico/100 g.
- A análise estatística multivariada através de PCA e HCA agrupou as amostras em relação à espécie de abelhas diferenciando as abelhas indígenas sem ferrão da espécie *A. mellifera* através da caracterização físico-química.
- Houve correlação significativa entre a atividade antioxidante e a presença das substâncias fenólicas detectadas, indicando que o valor terapêutico do mel pode ser atribuído à presença dessas substâncias.
- A atividade antioxidante obteve relação com a cor dos méis, onde méis mais escuros possuíram teores mais elevados de polifenóis totais e maior atividade antioxidante.

- O perfil cromatográfico dos méis indicou a presença de marcadores químicos específicos das espécies e suas regiões para possível identificação de origem botânica e em alguns casos geográfica, desses méis.
- Os compostos fenólicos majoritários presentes nos méis analisados foram o ácido gálico, ácido o-cumárico, ácido p-cumárico e o flavonóide quercetina.
- Apesar do conhecimento existente sobre o potencial antioxidante apresentado pelos ácidos fenólicos dos alimentos, é de extrema importância o estudo da ação destas substâncias in vivo, pois não foram encontrados dados a respeito de sua absorção, biodisponibilidade em condições fisiológicas e concentração plasmática ideal para sua atividade de proteção contra os radicais livres e doenças associadas, ainda que tenha sido verificado um elevado potencial antioxidante destes compostos in vitro.
- A preservação da flora silvestre da Amazônia é fundamental como a biota meliponínea que por sua vez produz o mel com atividade farmacológica tão essencial para a vida

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Esta pesquisa representa mais um passo no sentido de contribuir com resultados que incentivem a evolução da meliponicultura no Estado do Pará e a implantação de um modelo diferenciado de controle para o mel de meliponíneos. Muitas questões ainda estão em aberto, definindo pontos que devem ser explorados em outros trabalhos que sigam a mesma linha de pesquisa. Desse modo, a seguir são destacados elementos de pesquisa para serem investigados no futuro próximo:

- Validação de metodologias para verificação de atividade diastásica em méis de meliponíneo;
- Estudo da origem polínica dos méis.
- Estudo da ação farmacológica de ácidos fenólicos e flavonóides nos méis
- Estudo da ação de compostos fenólicos in vivo para verificação de absorção, biodisponibilidade em condições fisiológicas e concentração plasmática ideal para sua atividade de proteção contra os radicais livres e doenças associadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-MAMARY, M.; AL-MEERI, A.; AL-HABORI, A. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 2002. Vol. 22. 1041–1047p.

ALVES, R. M. de O.; CARVALHO, C. A.L. de, SOUZA, B. de A.; SODRÉ, G. S., MARCHIN, L. C. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 2005. 646-648 p.

ALVES, R. M. de O.; SOUZA, B. de A.; CARVALHO, C. A. L. de; JUSTINA, G. D. Custo de produção de mel: uma proposta para abelhas africanizadas e meliponíneos. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI, 2005. 14 p.

ALMEIDA, D. Espécies de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e tipificação dos méis por elas produzidos em área de cerrado do município de Pirassununga, Estado de São Paulo. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. USP, 2002. 103p.

ALMEIDA, D.; MARCHINI, L.C. Physicochemical and pollinic composition of honey samples of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) from the “cerrado” of Pirassununga campus, In: Proceedings of the 8th IBRA International Conference on Tropical Bees and VI Encontro sobre Abelhas, Ribeirão Preto, SP, 2004. 585p.

AMMON, R. Der Ursprung der Diastase des Bienenhonigs. *Biochemistry*, 1949. N° 319. 295-299 p.

ANACLETO, Daniela de Almeida; MARCHIN, Luís Carlos. Composição físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* provenientes do Cerrado paulista. São Paulo, 2004. 161p.

ANKLAM, E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 1998. Vol. 63, N° 4. 549-562p.

AROUCO, E. M. R. O emprego dos isótopos de carbono no controle de qualidade do mel, 2000. 8p.

ARRUDA, C. M. F.; MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G.da S.; MORETI A. C. de C. C. Características físico-químicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L. (hymenoptera, apidae) da região da Chapada do Araripe, município de Santana do Cariri, Estado do Ceará . Dissertação de Mestrado em Entomologia. USP, Piracicaba, SP, 2004. 146 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis, 1995. 2 ed. Suplemento.

AZEREDO, L. C.; AZEREDO, M. A. A.; BESER, L. B. de O.; COSTA, V. C. S.; SILVA, V. A. G. Características físico-químicas de amostras de méis de melíponas coletadas no estado de Tocantins. In: XIII Congresso Brasileiro de Apicultura, Florianópolis, SC, 2000. 24p.

AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. da C.; DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis - RJ. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1999. Vol. 19. Nº 1. 3-7p.

AZEREDO, L. da C.; AZEREDO, M. A. A.; SOUZA, S.R. de; DUTRA V. M. L. (2002). Protein contents and physicochemical properties in honey sample of *Apis mellifera* of different floral origins. Food Chemistry, 2003. Vol. 80. 249-254 p.

BIJLSMA, L.; BRUIJN, L; MARTENS, E. P.; SOMMEIJER, M. J. Water content of stingless bee honeys (*Apidae, Meliponini*) interspecific variation and comparison with honey of *Apis mellifera*. Apidologie, 2006. Vol. 37. 480-486p.

BOGÉA, A. L. G., COSTA, M. C. P.; NAHUZ, M. S. R. Análises sensoriais e físico-químicas de méis de *Apis mellifera*, oriundos de cinco municípios do Estado do Maranhão.

BOGDANOV, S; MARTIN, P; LULLMAN, C. Harmonized methods of the European honey commission. Apidologie, 1997. 1-59 p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000, Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/anexo_intrnorm11.htm. Acesso em: 20 de julho de 2006.

BRAVO, L.; ABIA, R. Y; SAURA-CALIXTO, F. Polyphenols as dietary fiber associated compounds comparative study on im vitro properties. J. Agric. Food Chem., 1994. Vol. 42. 1481-1487 p.

CANO, C. B.; ZAMBONI, C. Q.; ALVES, H. I; SPITERI, N.; ATUI, M. B.; SANTOS, M. C.; JORGE, L. I. F.; PEREIRA, U; RODRIGUES, R. M. M. Mel: fraudes e condições sanitárias. Rev.do Inst. Adolfo Lutz, São Paulo, 1992. Vol. 52. 1-4 p.

CAMPOS, G.; MODESTA, R. C. D. Diferenças sensoriais entre mel floral e mel de melato. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 2000. Vol. 59. Nº. 1 e 2. 7-14 p.

CAMPOS, G et al. Classificação de mel em floral ou mel de melato. Revista Ciência e Tecnologia de alimentos, 2003. Vol.123. Nº 1. 1-5p.

CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; JUSTINA, G. D. Sistema de produção para abelhas sem ferrão: uma proposta para o estado da Bahia. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI, 2005. 18 p.

CARVALHO, C. A. L. de; ALVES, R. M. O.; SOUZA, B de A. Criação de abelhas sem ferrão: aspectos práticos. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI, 2003. 42 p.

CARILLO MAGANA, F. A. Meliponicultura: el mundo de las abejas nativas de Yucatán. Mérida, México, 1998. 45-52p.

CARVALHO, J. G. L. Criação de abelhas: uma atividade rendosa. Salvador (2000), 21p.

CODEX ALIMENTARIUS. Revised codex standard for honey. Rev. 2, 2001. 24th session of the Codex Alimentarius in 2001. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/standard>. Acesso: 20 de outubro de 2003.

CIOLA, R. Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho: HPLC. São Paulo: Edgard Blücher, 2003. Cap.1. 7p.

CORNEJO, L. G.; TOMASEVICH, R. Estudio sumario de la calidade de las mieles de algunas zonas del Estado de Rio Grande do Sul – Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 1. , Florianópolis. Anais... Florianópolis: Confederação Brasileira de Apicultura, 1970. 241-245p.

CORREIA, P. R. M; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. Química. Nova, 2007. Vol. 30. Nº 2. 481p.

CORTOPASSI-LAURINO, M. Abelhas em agronegócios. VI Seminário Nordeste de Pecuária - Apicultura, Fortaleza,CE, 2002. 5-11p.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; MONTENEGRO DE AQUINO, H. Forrageamento na abelha uruçú (*Melipona scutellaris*). In: XIII Congresso Brasileiro de Apicultura, Florianópolis, SC, 2000. 15p.

CORTOPASSI-LAURINO, M; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; ROUBIK, D.W.; DOLLIN, A.; HEARD, T.; AGUILAR, I.B.; VENTURIERI, G.C.; EARDLEY, C.; NOGUEIRA-NETO, P. Global Meliponiculture: challenges and opportunities. Apidologie, 2006. Vol. 37. 1-18p.

CRANE, E. O livro do mel. 2ª edição. São Paulo: Nobel, 1985. 226 p.

D'ARCY, R. B. Antioxidants in Australian Floral Honeys –Identification of health-enhancing nutrient components. Rural Industries Research and Development Corporation. No. 05/040 Project No. UQ-102^a, 2005. 84p.

DAYRELL, I. O; VITAL, N. C. Comparação entre dois métodos oficiais para determinação de hidroximetilfurfural (HMF) em mel brasileiro. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1991. Vol.. 1, Nº 1. 137-141 p.

DEGANI, A. L. G; CASS, Q. B; VIEIRA, P. C. Cromatografia um breve ensaio. Química Nova na escola: Cromatografia, 1998. Nº 7. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc07/atual.pdf>. Acesso: 27 de abril de 2010.

DIMITROVA, B., GEVRENOVA, R., ANKLAM, E. Phytochemistry. Analytical, 2007. Vol. 18. 24p.

ESTEVINHO, L; PEREIRA, A. P; MOREIRA, L; DIAS, L. G; PEREIRA, E. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. Food and Chemical Toxicology, 2008. Vol. 46. 3774–3779p.

FERGUSON, L.R., HARRIS, P.J. Protection against cancer by wheat bran: role of dietary fibre and phytochemicals. European Journal of Cancer Prevention, 1999. Vol. 8, Nº. 1. 17-25 p.

FERREIRA, C. F. R. I; AIRES, E; BARREIRA, C. M. J; ESTEVINHO, M .L. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. Food Chemistry, 2009. Vol. 114. 1438–1443p.

FERREIRA, E. C; RODRIGUES, S. H. B. G; FERREIRA, M. M. C; NÓBREGA, J. A; NOGUEIRA, A. R. A. Exploratory analysis of inorganic constitution contents in grape juices and soft drinks. Eclet. Quim, 2007. Vol. 27. 77p.

FRÍAS, I; HARDISSON, A. Estudio de los parâmetros analíticos de interés en la miel. II. Azúcares, cenizas y contenido mineral y color. Alimentaria, 1992. Vol. 28. Nº. 235. 41-43 p.

GAMERO, A. M.; CORNEJO, L. G.; TOMASEVICH, R. Tipification de mieles de abejas de la Provincia de Buenos Aires. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, Florianópolis, 1970. 272-289p.

GIL, J. M. S. Apicultura. Barcelona: Aedos Barcelona, 1980. 418p.

GOMEZ, M. E. M.; HERNANDEZ, E. G.; GOMEZ, J. Y M.; MARIN, J. L. M. Physicochemical analysis of Spanish commercial Eucalytus honeys. J. Apic. Res, 1993. Vol. 32. N° 3. 121-126p.

GONZÁLEZ, M. M. El origem, la calidad y la frescura de uma miel : la interpretación de um análisis. In. : LORENZO, C. La miel de Madrid. Madrid: Madridinnova, 2002. 27-45p.

GONZÁLEZ, M. M; LORENZO, C. El análisis sensorial. In. : LORENZO, C. La miel de Madrid. Madrid: Madridinnova, 2002. 137-160 p.

HOLDEN, J.M. Assesment of The quality of data in nutritional databases. Bol. SBCTA, 1997. Vol. 31. N° 2. 105-108p.

INTERNATIONAL TRADE FORUM. Upswing in the honey market. International Trade Forum, 1977. Vol. 13. N° 3. 21-31p.

HORN, H. Méis Brasileiros: resultados de análises físico-químicas e palinológicas. In: XI Congresso Brasileiro de Apicultura, Teresina, PI, 1996. 403-429p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz, métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 3ª ed. São Paulo, 1985, v.1.

KERR, W.E. Biologia e manejo da Tiúba, a abelha do Maranhão. São Luís: Edufma, 1996. 156 p.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. A abelha uruçú: biologia, manejo e conservação. Belo Horizonte: Acanjáú, 1996. 143 p.

KERRY, N.L., ABBEY, M. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. *Atherosclerosis*, Limerick, 1997. Vol.135. Nº. 1. 93-102 p.

KOMATSU, S. S. Caracterização físico-química de méis de *Apis mellifera* L., 1758 (HYMENOPTERA: APIDAE) de diferentes municípios de São Paulo. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, 1996. 89 p.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Revista Ciência Rural*, Santa Maria, 2006. Vol. 36, Nº 4. 1283- 1287p.

KÜÇÜK, M.; KOLAYLI, S.; KARAOGLU, S.; ULUSOY, E.; BALTACI, C.; CANDAN, F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 2005. Nº 100. 526-534p.

LANARA - Laboratório Nacional de Referência Animal - Método Analítico Oficial para controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes. II – Métodos Físicos e Químicos. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981.

LIANDA, R. L. P.; CASTRO, R. N., PISSINATE, A. E. K. Atividade Antioxidante de Méis de *Apis mellifera*. Dissertação (Mestrado em Química). PPGQ-UFRRJ, 2004.142p.

LIANDA, R. L. P., CASTRO, R. N., ECHEVARRIA, A. Atividade Seqüestradora de Radicais Livres de Méis Brasileiros. Resumo. 32^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009.

MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C. Características físico-químicas de amostras de mel de cinco diferentes espécies de eucaliptos. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS. Campinas, 2001. 42p.

MARCHINI, L. C. Caracterização de amostras de méis de *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae) do Estado de São Paulo, baseada em aspectos físico-químicos e biológicos. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, 2001. 83p.

MARCHINI, L. C.; CARVALHO, C. A. L.; ALVES, R. M. de O.; TEXEIRA, G. M.; OLIVEIRA, P. C. F.; RUBIA, V. R. Características físico-químicas de amostras de méis da abelha urucu (*Melipona scutellaris*). In: XII Congresso Brasileiro de Apicultura, Salvador, BA, 1998. 201 p.

MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C. Características físico-químicas de amostras de mel e desenvolvimento de enxames de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera, Apidae), em cinco diferentes espécies de *Eucalyptus*. Bol. CEPPA, Curitiba, 2003. Vol. 21. Nº1. 193- 206 p.

MARCHINI, L.C.; SODRÉ, G.S.; MORETI, A.C.C.C; OTSUK, I. P. Composição físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* L. do Estado de Tocantins, 2004. 105p.

MARTÍN-CARRÓN, N.; SAURA-CALIXTO, F.; GONI, I. Effecto of dietary fibre and polyphenol-rich grape products on lipidaemia and nutritional parameters in rats. J. Sci. Food Agric., 2000. Vol. 80. 1183-1188 p.

McGREGOR, S.E. La apicultura en los Estados unidos. México: Limusa, 1979. 93 p.
BLIGH, E.G., DYER, W.J. A rapid method of total lipid and purification. Can.J.Biochemistry.Physi, 1959. Vol.37. 911-917p.

MEDA,A; LAMIEN, E. C; ROMITO,M; MILLOGO,J.,NACOUлма, G.O. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry, 2005. Vol. 91. 571–577p.

MELO, Z. F. N.; DUARTE, M. E. M.; MATA, M. E. R. M. C. Estudo das alterações do Hidroximetilfurfural e da Atividade Diastásica em méis de abelha em diferentes

condições de armazenamento. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, 2003. Vol. 5.Nº.1. 89-99p.

MENDES, E.; PROENÇA, E. B.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; FERREIRA, M. A. Quality evaluation of portuguese honey. Carbohydr. Poly, 1998. Vol. 37. Nº. 3. 219-223p.

MENSOR LL, MENEZES FS, LEITÃO GG, REIS AS, DOS SANTOS TC, COUBE CS, LEITÃO SG. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. Phytother Res, 2001. Vol. 15. 127-130p.

MERCOSUL. Grupo de Mercado Comum. Resolução n. 88/99. Regulamento Técnico Mercosul: “Identidade e Qualidade do Mel”. Disponível em: <http://www.mercosur.org.uy/português/normativa>. Acesso: 20 de outubro de 2009.

MICHALKIEWICZ, A.; BIESAGA, M.; PYRZYNSKA, K. Solid-phase extraction procedure for determination of phenolic acids and some flavonols in honey. Journal of Chromatography A, 2008. Vol. 1187. 18–24p.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T.C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacol. Rev., 2000. Vol.. 52. Nº. 4. 673-751 p.

MOREIRA, R. F. A.; MARIA, C. A. B de. Glicídios no mel. Química Nova, 2001. Vol. 24. Nº. 4. 516-525p.

MOURA, M. C. S; LOPES, A. N. C; MOITA, G. C; NETO, G. M. M. Estudo multivariado de solos urbanos da cidade de Teresina. Química Nova, 2006. Vol. 23. Nº3. 429p.

MOURE, J. S & KERR, W.E. Sugestões para a modificação da sistemática do gênero *Melipona*. Dusenía, 1950. Vol. 1. Nº. 2. 105-29p.

NAWAR, W.W. Lipids. Food Chemistry. 1985. 139-244 p.

NOGUEIRA-NETO, P. Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão. São Paulo: Nogueirapis, 1997. 446 p.

PAAR, A.J. E & BOLWELL, G. P. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. J.Sci. Agric., 2000. Vol. 80. 985-1012p.

PAMPLONA, B. C. Exame dos elementos químicos inorgânicos encontrados em méis brasileiros de *Apis mellifera* e suas relações físico-biológicas. São Paulo, 1989. 131 p.

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

PANERO, F. S; PANERO, J. S; SILVA, H. E. B. Application of HCA and PCA in the discrimination of not polluted tubular wells from tubular wells with incidence of anthropogenic pollution in Western Amazon Region. Chinese Journal of Geochemistry, 2006. Vol. 25. 165p.

PANERO, F. S; SILVA, H. E. B. Application of exploratory data analysis for the characterization of tubular wells of the North of Brazil. Microchemical Journal, 2008. Vol. 88. N° 2. 194p.

PARR, A. J; BOLWELL, G. P. Phenols in plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. J. Sci. Food Agric, 2000. Vol. 80. 985-1012p.

PEREIRA, F. d. M., LOPES, M. T. d. R., CAMARGO, R. C. R. d. e VILELA, S. L. de O. Produção de mel. Embrapa Meio-Norte - Sistema de Produção, 2003. Vol. 3. 24p.

PERSANO-ODDO, L.; PIAZZA, M. G.; SABATINI, A. G.; ACCORTI, M. Characterization of unifloral honeys. Apidologie, 1995. Vol. 26. 453-465p.

PFALTZGRAFF, M.C.T.A.; PINTO, T.A.; MAROTTE, C.; MAIA, L.H.; MARIANO, A.C.A.M. Determinação do pH, teor de minerais, sólidos insolúveis e umidade de méis comercializados na Região da Leopoldina, Rio de Janeiro, 2001. 17-39p.

PONTES, A. N. P. Caracterización de la calidad nutricional de zumos de naranja: Comparación entre zumos tratados com altas presiones. Trabajo de investigación, não publicado. Instituto del Frio (C. S. I. C.). Madrid, 2002. 35-39p.

RAMALHO, R.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; e KLEINERT-GIOVANNINI, A. Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas. São Paulo Manole, 1991. 225-252p.

REGO, J. G. S.; XIMENES, R. S. S.; CARNEIRO, J. G. M. Qualidade de méis de *Apis mellifera* através de parâmetros físico-químicos. V Encontro Sobre Abelhas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, 2002. 284p.

Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade do mel e produtos apícolas, Série Regulamentação Técnica de Identidade e Qualidade de Produtos de Origem Animal, nº 6. Brasília: MAPA/DAS/DIPOA/DNT, 2001. 28p.

Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, 2003. Vol. 5. Nº.1. 89-99p.

RINAUDO, M.T.; PONZETTO, C.; VIDANO, C.; MARLETTO, F. The origin of honey amylase. Comp. Biochem. Physiol, 1973. Vol. 46, Nº 2B. 253-256 p.

RHODES, M. J. C. Physiological roles for secondary metabolites in plants; some progress, many outstanding problems . Plant. Mol. Biol., 1994. Vol. 24. 1-20p.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TRUCKER, G.; SWATSRANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative process in fruits. Food Chemistry 1999. Nº 66. 401-436p.

RODRIGUES, A. E; SILVA, E. M. S.; BESERRA, E. M. F.; RODRIGUES, M. L. Análise físico-química dos méis de abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em regiões distintas no Estado da Paraíba. Ciência Rural, Santa Maria, 2004. Vol. 35. Nº. 5.1166-1171p.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chemistry, 2005. Vol. 92. 235-254 p.

SÁNCHEZ-MORENO, C. et al. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. J. Sci. Food Agric., 1998. Vol. 76. 270-276 p.

SEEMANN, P.; NEIRA, M. Tecnología de la producción apícola. Valdivia: Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias Empaste, 1988. 202 p.

SERRA, C. C. M. As Propriedades Antioxidantes do Mel. Dissertação de Mestrado. Centro de Estudos de Engenharia Química. Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, 2005.

SHARAF, M. A; ILLMAN, D. L; KOWALSKI, B. R. Chemometrics. Journal of Chemometrics, 1986. Vol. 1. N° 4. 332p.

SHAHIDI, F. Phenolic Compounds in Foods and Their Effects on Health., Chemical Society, 1992. 214-222p.

SILVA, C. L. da; QUEIROZ, A. J. de M.; FIGUEIREDO, R.M. F. de. Physical and chemical characterization of honeys produced in the State of Piauí - Brazil. Rev. bras. eng. agríc. ambient., Campina Grande, 2004. Vol. 8. 3p.

SILVA, E. V. C. da. Caracterização e Pasteurização de méis de abelhas *M.fasciculata* (Uruçu-cinzenta) e *A. mellifera* (Africanizadas). Dissertação de Mestrado. UFPA, 2006. 37-55p.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R. & ALMEIDA; E. A. B. 2002. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Belo Horizonte, MG, Min. Meio Ambiente/Fundação Araraucária, 2001. 253p.

SIMAL, J.; HUIDOBRO, J. Parámetros de calidad de la miel III. Acidez (pH, libre, láctónica & total) e índice de formol. *Offarm*, 1984. Vol.. 3. Nº. 9. 532p.

SINGLETON, V.L; ROSSI, J.A. GRTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu. *Oxidants and Antioxidants*, 1999. 299p.

SLATTERY, M. L.; BENSON, J.; CURTIN, K.; MA, K-N.; SCHAEFFER, D.; POTTER, J. D. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 2000. Vol. 71. 575-582p.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, Campinas, 2002. Vol. 15.71-81p.

SOCHA, R.; JUSZCZAK, L.; PIETRZYK, S.; FORTUNA, T. Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoneys. *Food Chemistry*, 2009. Vol. 113. 571p.

SODRÉ, G. S. Características físico-químicas e análises polínicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera; Apidae) da região litoral norte do Estado da Bahia. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” /USP, 2000. 83p.

SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; ARRUDA, C. M. F.; LEVY, P. S. Viscosidade e umidade de amostras de mês de *Apis mellifera* provenientes de estados da região Nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 10. Piracicaba, 2002. 12p.

SOUSA, R. A; Neto, W. B.; Poppi, R. J; Baccam, N; Cadore, S. Classificação de água de coco processada e natural por meio de HCA, PCA e teores de íons metálicos determinados por ICP OES. *Química Nova*, 2006. Vol. 23. Nº 4. 654p.

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*, 2004. Vol. 34. N° 5. 1623-1624p.

SOUZA, D.C.; BAZLEN, K. Análises preliminares de características físico-químicas de méis de Tiúba (*Melipona compressipes*) do Piauí. In: XII Congresso Brasileiro de Apicultura, Salvador, BA, 1998. 267p.

SOUZA, D.C.; BAZLEN, K. 1998. Análises preliminares de características físico-químicas de méis de tiúba (*Melipona compressipes*) do Piauí. In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 12. Salvador. Anais. Salvador, Confederação Brasileira de Apicultura, 1984. 267p.

SPORNS, P.; PLHAK, L.; FRIEDRICH, J. Alberta honey composition. *Food Res. International*, 1992. Vol. 25. N° 2. 93- 100 p.

STEINMETZ, K. A. y POTTER, J.D. Vegetables, fruit and câncer preventions: a review. *J. Amer. Diet. Assoc.*, 1996. Vol. 96. 1027-1039p.

STEWART, D.; Mc GREGOR, D.; KLEHUES, P. Principles of chemoprevention. Lyon, France, IARC Scientific Publication, 1996 N°139. 56p.

STONE, H.; SIDEL, J. L. Sensory evaluation practices. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1993. 338p.

STROHECKER, R., HENNING, H.M. Analisis de vitaminas: métodos comprobados. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.

TANNENBAUM, S. Vitaminas y minerales. In: Introducción a la ciencia de los alimentos. 2^a. Ed., Barcelona, Fennema, O.R., Ed. Reverté, S.A., 1985. Vol.1. 404-443p.

TIBBLE, D.L. Further evidence of the cardiovascular benefits of diet enriched in carotenoids. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1996. Vol. 68. 521-522 p.

THRASYVOULOU, A. T. The use of HMF and diastase as criteria of quality of Greek honey. J. Apic. Res., v.25, n.3 (1986), 186-195p.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. Compendium of methods for microbiological examination of foods. 3.ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1992. 914 p.

VENTURIERI, Giorgio Cristino ; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. . *Scaptotrigona nigrohirta* e *Melipona melanoventer* (Apidae: Meliponinae): Espécies amazônicas com potencialidades para meliponicultura.. In: IV Encontro Sobre Abelhas, 2000, Ribeirão Preto. Anais do IV Encontro Sobre Abelhas. Ribeirão Preto : Faculdade de Ciências e Letras de Ribeirão Preto, 2000. Vol. 1. 356-356 p.

VENTURIERI, G. C. Criação de abelhas indígenas sem ferrão. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. 31-32 p.

VENTURIERI, G. C. Contribuições para a criação racional de meloponíneos amazônicos. Belém, PA : Embrapa Amazônia Oriental, 2008. 26p.

VENTURIERI, G. C; OLIVEIRA, P. S; VASCONCELOS, M. A. M; MATTIETTO, R. A. Caracterização, colheita, conservação e embalagem de méis de abelhas indígenas sem ferrão. Embrapa Amazônia Oriental, 2007. 51p.

VENTURIERI, G. C; RAIOL, V.F.O; PEREIRA, C.A.B. Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança-Pa, Brasil. Revista Biota Neotropica, 2003. Vol. 3, N°. 2. 7p.

VENTURIERI, G. C; COSTA, L.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Descrição de ninho e criação de canudo-amarela *Scaptotrigona* sp (Apidae: Meliponina) em Belterra, PPPA, Brasil, 2006. 1-8p.

VIDAL, R.; FREGOSI, E.V. de. Mel: características, análises físico-químicas, adulterações e transformações. Barretos: Instituto Tecnológico Científico “Roberto Rios”, 1984. 95 p.

VILLAS-BÔAS, J. K. e MALASPINA, O. Parâmetros físico-químicos propostos para o controle de qualidade do mel de abelhas indígenas sem ferrão no Brasil. Revista Mensagem Doce, 2005. Nº.82. 16p.

YAO, L., DATTA, N., TOMÁS-BARBERÁN, F. A., FERRERES, F., MARTOS, I. AND SINGANUSONG, R. Flavonoids, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand Leptospermum honeys. Food Chemistry, 2003. Vol. 81. Nº 2. 159-168p.

YAO, L.; JIANG, Y.; SINGANUSONG, R.; DATTA, N.; RAYMONT, K. Phenolic acids and abscisic acid in Australian Eucalyptus honeys and their potential for floral authentication. Food Chemistry, 2004. Vol. 86. 169–177p.

WHITE, J. W. & KUSHINIR, I. The enzymes of honey: examination by ion-exchange chromatography, gel filtration, and starch-gel electrophoresis. Journal of Apicultural Research, 1967. Vol.6, Nº.2. 69-89p.

WHITE, J.W. & SICILIANO, J. Hydroximetilfurfural and honey adulteration. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, Philadelphia, 1980. Vol. 63. Nº. 1. 7-10p.

WHITE, J.W. Physical characteristics of honey. In: CRANE, E. Honey a comprehensive survey. London: Heinemann, 1975. 207-39 p.

WHITE JUNIOR, J. W. Methods for determining carbohydrates, hydroximetilfurfural and proline in honey; collaborative study. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 1979. Vol. 62. Nº. 3. 525 p.

ANEXO

| Parâmetros | <i>Apis mellifera</i> | | | | | <i>Melipona flavolineata</i> | | | | <i>Melipona fasciculata</i> | | | |
|---------------|-----------------------|------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | T | S.J.P | N.T | S.M.G | V | T | S.J.P | N.T | V | T | S.J.P | N.T | S.M.G |
| pH | 3,45 ^a | 3,62 ^a | 3,01 ^a | 3,33 ^a | 3,35 ^a | 3,69 ^a | 3,62 ^a | 3,87 ^a | 3,79 ^a | 4,27 ^b | 3,62 ^a | 3,35 ^a | 2,99 ^a |
| M(SD) | (±0,01) | (±0,01) | (±0,01) | (±0,01) | (±0,01) | (±0,19) | (±0,01) | (±0,02) | (±0,01) | (±0,01) | (±0,01) | (±0,01) | (±0,04) |
| Acidez meq/kg | 73,17 ^b | 74,62 ^b | 71,04 ^b | 66,56 ^a | 76,37 ^b | 44,98 ^b | 34,06 ^a | 47,73 ^b | 35,53 ^a | 15,52 ^a | 20,20 ^b | 45,51 ^c | 67,81 ^d |
| M(SD) | (±0,01) | (±0,28) | (±0,51) | (±0,23) | (±0,48) | (±0,68) | (3,05) | (1,92) | (0,93) | (1,08) | (2,06) | (0,95) | (1,89) |
| Umidade % | 20,07 ^a | 21,20 ^a | 19,87 ^a | 20,07 ^a | 20,01 ^a | 27,70 ^a | 26,73 ^a | 25,30 ^a | 24,00 ^a | 24,90 ^a | 25,23 ^a | 23,33 ^a | 21,17 ^a |
| M(SD) | (±0,12) | (±1,04) | (±0,29) | (±0,12) | (±0,29) | (±0,17) | (±1,10) | (±0,17) | (±0,20) | (±0,79) | (±0,25) | (±0,29) | (±0,76) |
| RMF % | 0,06 ^a | 0,13 ^a | 0,14 ^a | 0,03 ^a | 0,24 ^a | 0,33 ^a | 0,19 ^a | 0,14 ^a | 0,24 ^a | 0,08 ^a | 0,15 ^a | 0,22 ^a | 0,17 ^a |
| M(SD) | (±0,01) | (±0,01) | (±0,02) | (±0,01) | (±0,02) | (±0,05) | (±0,03) | (±0,01) | (±0,02) | (±0,01) | (±0,01) | (±0,04) | (±0,02) |
| Brix % | 78,47 ^a | 78,13 ^a | 79,33 ^a | 78,00 ^a | 79,23 ^a | 70,30 ^a | 71,40 ^a | 72,93 ^a | 73,77 ^a | 73,67 ^a | 73,00 ^a | 75,23 ^a | 78,63 ^a |
| M(SD) | (±0,06) | (±0,12) | (±0,29) | (±0,00) | (±0,25) | (±0,68) | (±1,22) | (±0,12) | (±0,25) | (±0,76) | (±0,20) | (±0,25) | (±0,32) |
| AR % | 75,08 ^b | 70,75 ^b (±1 | 69,94 ^a | 77,02 ^b | 76,12 ^b | 67,48 ^a | 71,99 ^b | 75,84 ^b | 64,18 ^a | 72,84 ^b | 71,66 ^b | 69,94 ^a | 71,45 ^b |
| M(SD) | (±0,75) | ,96) | (±2,18) | (±1,48) | (±0,66) | (±0,4) | (±1,51) | (±1,07) | (±1,95) | (±3,46) | (±1,52) | (±2,18) | (±0,61) |
| AT % | 82,13 ^a | 78,60 ^a | 78,20 ^a | 80,64 ^a | 78,45 ^a | 69,35 ^a | 76,43 ^b | 77,66 ^b | 69,16 ^a | 85,80 ^b | 84,94 ^b | 74,53 ^a | 77,08 ^a |
| M(SD) | (±1,08) | (±0,26) | (±0,80) | (±0,31) | (±1,98) | (±0,59) | (±2,02) | (±1,36) | (±1,60) | (±2,18) | (±2,99) | (±0,24) | (±0,51) |
| Sacarose % | 7,05 ^c | 7,85 ^c | 2,30 ^a | 3,62 ^b | 2,33 ^a | 1,78 ^a | 4,21 ^b | 1,82 ^a | 4,98 ^b | 12,96 ^c | 13,28 ^c | 4,60 ^a | 5,64 ^b |
| M(SD) | (±0,95) | (±2,10) | (±0,54) | (±1,30) | (±2,18) | (±0,51) | (±0,96) | (±2,41) | (±1,0) | (±4,52) | (±1,47) | (±2,25) | (±0,12) |
| Proteína % | 0,43 ^a | 0,68 ^a | 0,33 ^a | 0,55 ^a | 0,61 ^a | 0,28 ^a | 0,27 ^a | 0,38 ^a | 0,28 ^a | 0,1 ^a | 0,15 ^a | 0,40 ^a | 0,41 ^a |
| M(SD) | (±0,07) | (±0,05) | (±0,17) | (±0,03) | (±0,07) | (±0,08) | (±0,01) | (±0,14) | (±0,00) | (±0,05) | (±0,04) | (±0,04) | (±0,24) |
| HMF mg HMF/Kg | 8,07 ^d | 3,54 ^a | 6,45 ^b | 7,35 ^c | 8,70 ^d | 5,32 ^a | 6,38 ^b | 6,73 ^b | 5,45 ^a | 6,6 ^b | 3,96 ^a | 6,91 ^b | 8,29 ^c |
| M(SD) | (±0,5) | (±0,60) | (±0,31) | (±0,20) | (±0,33) | (±0,05) | (±1,90) | (±0,17) | (±0,1) | (±1,41) | (±0,27) | (±0,35) | (±0,71) |
| AA mg/100g | 4,63 ^a | 4,84 ^a | 4,76 ^a | 4,59 ^a | 4,44 ^a | 1,90 ^a | 1,05 ^a | 4,99 ^c | 2,09 ^b | 1,05 ^a | 3,13 ^b | 4,59 ^c | 4,18 ^c |
| M(SD) | (±0,26) | (±1,19) | (±0,54) | (±0,22) | (±0,67) | (±0,17) | (±0,00) | (±0,14) | (±0,01) | (±0,00) | (±0,00) | (±0,21) | (±0,77) |
| PT mg/100g | 68,25 ^b | 138,25 ^c | 121,72 ^c | 154,28 ^c | 36,68 ^a | 26,39 ^a | 236,71 ^c | 58,59 ^b | 56,78 ^b | 25,53 ^a | 88,81 ^d | 62,21 ^c | 59,78 ^b |
| M(SD) | (±3,64) | (±3,92) | (±3,82) | (±2,44) | (±1,65) | (±2,44) | (±0,61) | (±1,22) | (±0,78) | (±0,94) | (±1,40) | (±1,81) | (±1,74) |
| AD | 14 ^a | 14,5 ^a | 13 ^a | 14 ^a | 14 ^a | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| Cor (nm) | 0,462 | 0,592 | 0,442 | 0,552 | 0,331 | 0,367 | 0,428 | 0,262 | 0,124 | 0,162 | 0,496 | 0,334 | 0,335 |

M: média; SD: desvio padrão; RMF: resíduo mineral fixo; AR: açúcares redutores; AT: açúcares totais; HMF: hidroximetilfurfural; AA:ácido ascórbico; PT: polifenóis totais; AD: atividade diastásica; nd: não detectado;

Letras horizontais iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)