

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS CAMPO MOURÃO
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS – DALIM**

LETÍCIA DE AGUIAR ZANATTA

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE AQUECIMENTO E NÍVEIS DE
HIDROXIMETILFURFURAL DE MEL DE ABELHAS *Apis mellífera africanizada*
(*Lepeletier, 1836*) COM BASE NA PORTARIA Nº6 DE 25 DE JULHO DE 1985**

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. MARIA JOSIANE SEREIA

**CAMPO MOURÃO
2019**

LETÍCIA DE AGUIAR ZANATTA

“Avaliação dos parâmetros de aquecimento e níveis de hidroximetilfurfural de mel de abelhas *Apis mellífera africanizada* (Lepeletier, 1836) com base na Portaria nº 6 de 25 de julho de 1985.”

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Prof. Maria Josiane Sereia

CAMPO MOURÃO

2019



TERMO DE APROVAÇÃO

**(“AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE AQUECIMENTO E NÍVEIS DE
HIDROXIMETILFURFURAL DE MEL DE ABELHAS *APIS MELLIFERA* COM BASE NA
PORTARIA Nº 6 DE 25 DE JULHO DE 1985.”)**

Por

(LETÍCIA DE AGUIAR ZANATTA)

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado no dia ____ de _____ de 20__ como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

PROF^a. DRA. MARIA JOSIANE SEREIA

PROF^o. DR. AUGUSTO TANAMATI

PROF^o. ALINE TAKAOKA ALVES BAPTISTA

**NOTA: O DOCUMENTO ORIGINAL E ASSINADO PELA BANCA EXAMINADORA
ENCONTRA-SE NA COORDENAÇÃO DO CURSO DE ENGENHARIA DE
ALIMENTOS DA UTFPR CAMPUS CAMPO MOURÃO.**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por me dar forças e nunca me deixar desistir nas horas mais difíceis, por sempre ser tão bom e generoso em atender minhas orações.

Agradecer à minha família por me apoiar nas horas difíceis e nunca me deixar desistir.

E aos amigos por estarem ao meu lado, por serem tão essenciais na minha formação, me apoiando e auxiliando sempre que precisei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar a oportunidade de estar em uma universidade.

Agradeço à minha orientadora Prof^a.Dra^a. Maria Josiane Sereia, por todo suporte dado e por server de inspiração nesta reta final.

Gostaria também de agradecer à minha banca avaliadora por estar disponível. Agradeço aos meus amigos que foram peças essenciais na minha formação, me apoiando de tantas formas Ariane Ambrósio, Amanda Gesser, Letícia Vanin, Andressa Ricci, Scarlat Fogaça, Jessica Sampaio, Nicolas Hyrycena, entre outros.

Em especial gostaria de agradecer aos meus pais, Rosilene de Aguiar e Luiz Carlos Zanatta, por me darem a vida e cuidar de mim, por me apoiar nas horas difíceis e por nunca terem me deixado desistir desse sonho.

RESUMO

O hidroximetilfurfural - HMF é um dos parâmetros utilizados para determinar a qualidade do mel. Sua alta concentração pode indicar principalmente tempo de armazenamento prolongado e submissão a temperaturas elevadas, o HMF ainda pode indicar se houve adulteração no mel com a adição de açúcares redutores. A sua determinação foi feita pelo método espectrofotométrico (WHITE, 1979). A legislação vigente nº 11, de 20 de outubro de 2000 (BRASIL, 2000) dita que a quantidade máxima permitida de HMF para o mel de *Apis melífera africanizada* (Lepeletier, 1836) é de 60 mg/g. Para a determinação do HMF as amostras foram submetidas ao tratamento térmico seguindo os binômios tempo x temperatura dispostos no capítulo II, da portaria nº 6 de 25 de julho de 1985 para que seja possível verificar a veracidade desta portaria. O método analítico utilizado foi 980.23 da AOAC também conhecido como método de White, que possibilitou determinar a concentração de HMF presente nas amostras. Como resultado foi possível quantificar o HMF presente nas amostras sem e com tratamento térmico, e a partir das análises estatísticas verificou se houve variação significativa entre os tratamentos. Portanto, concluiu-se que os efeitos da temperatura ocasionam o aumento da concentração de HMF, assim como seu tempo de exposição a elas e tempo de armazenamento.

Palavra Chave: Hidroximetilfurfural-HMF, tempo x temperatura, mel, armazenamento.

ABSTRACT

Hydroxymethylfurfural – HMF is one of the parameters used to determine honey quality. Its high concentration can mainly indicate prolonged storage time and submission to high temperatures, HMF can still indicate if there has been adulteration in honey with the addition of reducing sugars. Its determination was made by the spectrophotometric method of (WHITE,1979). Current legislation (BRAZIL, 2000) dictates that the maximum permitted amount of HMF for *Apis mellifera africanizada* (Lepeletier, 1836) honey is 60 mg/g. For the determination of the HMF the samples were subjected to the heat treatment following the time x temperature binomials disposed in chapter II, of the decree nº6 of July 25, 1985 and verifying the veracity of this decree. The analytical method used was AOAC 980.23, also known as Whithe's method, which made it possible to determine the concentration of HMF present in the samples. As a result it was possible to quantify the HMF present in the samples without and with heat treatment, and from statistical analysis verified if there was significant variation between the treatments. Therefore, it was concluded that the effects of temperature cause the increase of HMF concentration, as well as its exposure time and storage time.

Keywords: Hydroxymethylfurfural – HMF, time x temperature, honey, storage.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Molécula de 5-hidroximetil-2-furfural. [Fonte: CASTOLDI, 2014]. 15
- Figura 2** - Reação de formação do HMF por desidratação em meio ácido. [Fonte: CASTOLDI, 2014] 16
- Figura 3** - Efeito do tratamento térmico nas amostras. [Fonte: Autoral, 2019] 22

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Binômio tempo x Temperatura. [Fonte: Brasil, 2000]. 19
- Tabela 2** – Preparo dos tubos de referência e amostra para leitura do parâmetro HMF. 19
- Tabela 3** - Dados de HMF (mg/g) das amostras seguindo o binômio tempo x temperatura. 21
- Tabela 4** - Análise de variância entre as amostras ao nível de significância de 5%.23
- Tabela 5**-Desvio padrão entre as médias das médias dos tratamentos térmicos. 23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	O MEL.....	13
2.2	CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS	14
2.3	5 – HIDROXIMETIL-2-FURFURAL (HMF).....	15
3	OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICO	17
3.1	OBJETIVO GERAL.....	17
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	17
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
4.1	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS GERAIS	18
4.2	PREPARO DOS REAGENTES E SOLUÇÕES	18
4.3	PREPARO DA AMOSTRA	18
4.4	CÁLCULO E EXPRESSÃO DOS RESULTADOS.....	19
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6	CONCLUSÃO.....	25
7	REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

O mel produzido pelas abelhas é um alimento natural e de alto valor nutritivo, sendo um bom substituto do açúcar devido as suas características adoçantes, é rico em energia e possui várias substâncias essenciais. Sendo um líquido viscoso açucarado retirado do néctar das flores onde após algumas transformações é depositado nos favos, ficando lá até que esteja pronto para o consumo (EMBRAPA, 2007; CRANE, 1983).

A apicultura só teve início no território brasileiro em 1839, por meio do padre Antônio Carneiro que trouxe do Porto, Portugal algumas colônias de abelhas da espécie *Apis mellífera mellífera* (abelhas alemã ou preta) para o Rio de Janeiro. Anos mais tarde foram introduzidas as abelhas européias, que foram alocadas principalmente nas regiões sul e sudeste do país. Mas somente em 1956 ocorreu o ápice da apicultura no Brasil onde por acidente as duas espécies se cruzaram, dando origem as abelhas africanizadas *Apis mellífera africanizada* (Lepeletier, 1836). Por possuir em ampla diversidade vegetal, o Brasil oferece aos apicultores ampla exploração e elevada produção, a região brasileira com maior potencial é o Nordeste sendo também uma das poucas regiões que tem a capacidade de produzir mel orgânico em grande escala (SEBRAE, 2015; QUEIROGA et al., 2015).

A busca por alimentos saudáveis e de alto valor nutritivo, faz do mel uma das melhores opções para se consumir, por atender essas especificações e também por ter uma alta aceitabilidade por parte de quem o consome. O mel também possui propriedades terapêuticas, além de ter alto teor energético o que auxilia na realização das tarefas diárias. A composição do mel vai variar conforme a região, a disposição vegetal, espécie da abelha, estado de maturação do mel, e de todos os fatores edafoclimáticos. Após a sua colheita o mel ainda sofre grandes variações físico-químicas e organolépticas. Por isso faz-se necessário que a produção aconteça com alto padrão de qualidade, controlando todas as etapas de processamento desde o apicultor até o consumidor (JUST et al, 2010; QUEIROGA et al., 2015).

De acordo com à instrução normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000 sobre o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel, as características físico-químicas utilizadas para fornecer informações sobre o mel floral que possam

contribuir para o conhecimento deste produto, são: Açúcares redutores (mínimo 65g/100g), umidade (máximo 20g/100g), sacarose aparente (máximo 6g/100g), sólidos insolúveis em água (máximo 0,1g/100g), minerais (máximo 0,6g/100g), presença de grãos de pólen, acidez (máximo de 50meg/Kg), atividade diastásica (mínimo, 8 na escala de Göthe) e Hidroximetilfurfural (máximo de 60 mg/kg).

O parâmetro que melhor indica o padrão de qualidade do mel ou se houve algum tipo de adulteração é o Hidroximetilfurfural (HMF), ele fornece informações sobre a composição do mel, se o tratamento térmico que o mesmo foi submetido respeitou o binômio tempo/temperatura, as condições de armazenamento ou adulteração com adição de xarope com açúcar invertido. Sendo que em méis recém-colhidos a produção de HMF deve ser nula, mais aumenta com o passar do tempo e com os fatores já citados (DIDIÉ, 2015).

Para obter os efeitos propiciados por este recurso tecnológico e ao mesmo tempo evitar a desclassificação do produto como mel de mesa, é necessário a prevenção do aumento do teor de HMF, devendo para isso, respeitar um dos binômios tempo e temperatura, definidos no capítulo II da portaria nº 6 de 25 de julho de 1985. Na prática, para a sua realização, é recomendado o emprego de sistemas rápidos de aquecimento e arrefecimento de méis em trocadores de calor a placas ou de feixe tubular, com vistas a não depreciar a qualidade do produto (BRASIL, 1985). Segundo esta portaria, após escolha e cumprimento de uma das relações tempo e temperatura, o nível de aquecimento deverá ser rapidamente rebaixada ao limite máximo de 50°C.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi aplicar os parâmetros de aquecimentos definidos no capítulo II da Portaria nº6 de 25 de julho de 1985 do Ministério da Agricultura - Secretaria de Inspeção de Produto Animal e verificar os respectivos níveis de HMF em amostras de mel de abelhas *Apis mellífera africanizada* (Lepeletier, 1836) a fim de avaliar a veracidade desta portaria.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O mel

O mel é um produto de origem animal obtido a partir do néctar das flores e exsudatos sacarínicos produzidos por insetos sugadores de seivas, como as abelhas *Apis mellífera africanizada* (Lepeletier, 1836). É um produto viscoso, aromático e açucarado que as abelhas produzem. O néctar retirado das plantas é transportado até a colônia onde ocorrem transformações do produto original, havendo mudanças na sua concentração devido a perda de água e composição química, a partir daí o mel é armazenado nos alvéolos (EMBRAPA, 2006).

O mel é um produto rico em carboidrato e sua umidade pode variar (15 – 20%), por ser um produto que depende tanto da sua origem floral como dos fatores edafoclimáticos, suas propriedades físico – químicas variam de acordo com sua região. Deste modo, o mel deve seguir um padrão de qualidade elevadíssimo sendo controlado em todas as etapas de processamento. Em resumo o mel é composto por três substâncias como o açúcar, água e outros. Apesar de parecer uma substância simples o mel é um dos produtos mais complexo devida sua composição, que varia de acordo com a florada o que implica nas suas propriedades físico-químicas, aroma, sabor, e no seu poder de cristalização (EMBRAPA, 2006; FEÁS et al., 2010).

Uma das primeiras formas de se adoçar os alimentos foi o mel (FEÁS et al., 2010). Na antiguidade o mel era coletado nas florestas, hoje em dia utiliza – se a apicultura como meio de cultivo das colméias, com a finalidade de produção de mel. Por ser um produto natural, e possuir alto valor nutritivo, o mel detêm um alto valor econômico. O aumento em seu consumo nos dias de hoje, se deve a busca por alimentos naturais que tragam benefícios a saúde. Além de tudo o mel, possui dentre suas vantagens propriedades medicinais como poder anti-inflamatório, antioxidantes, antivirais e atividade anti-úlceras (VIUDA-MARTOS et al., 2008; CASTOLDI, 2014).

A cor, sabor e textura do mel variam com a sua origem floral, assim como sua idade e temperatura, no mercado os méis mais vendidos são os que possuem cores claras. O mel é um dos alimentos que possuem maior complexidade em sua composição. Seus constituintes são 70 % açucares (sacarose e glicose) 10 %

dissacarídeos (maltose e sacarose) e variando 17 – 20% água variando de região para região, assim como já dito. Muitos dos méis comercializados podem sofrer algumas adulterações, como adição de xarope de milho. O *Códex alimentarius* (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2000) cita, para o mel comercializado que nenhum composto, incluindo aditivos devem ser adicionado a composição (AJLOUNI;SUJIRAPINYOKUL, 2010; ISLAM et al., 2014; CASTOLDI, 2014).

Em muitos casos a determinação de mel adulterado é feito pela análise de seus componentes e comparado com os componentes de um mel natural. Em média a adulteração do mel corresponde no aumento de cinzas, teor de umidade, cálcio e 5-hidroximetil-2-furfuraldeído (HMF) (WHITE; SICILIANO, 1980).

Mesmo o HMF sendo um indicador de qualidade do mel, sua adulteração não pode ser baseado unicamente neste parâmetro, devido a, muitos dos adulterantes adicionados ao mel (xarope de milho, açucares redutores) apresentarem valores mínimos de HMF e levando em consideração que o HMF possui presença natural no mel. Portanto, para a determinação de adulteração deve-se levar em conta outros parâmetros (WHITE; SICILIANO, 1980).

2.2 Características físico – químicas

O mel possui uma coloração própria que vai desde o branco água até o âmbar escuro, em sua maioria prevalece as cores mais claras, sendo também um atrativo para sua comercialização já que os consumidores optam por méis mais claros por possuírem um sabor mais doce. Em específico nos méis de *Apis mellifera africanizada* (Lepeletier, 1836) há predominância da coloração mais clara, mais também é possível encontrar na cor de âmbar claro e escuro, os fatores que tem grande influência na cor do mel são os teores de cinza, umidade, temperatura e tempo de armazenamento. (MARCHINI et al., 2007).

A quantidade de cinzas está diretamente ligada com os fatores edafoclimáticos do mel, em que o valor máximo prescrito pela legislação brasileira é ($\leq 0,6\%$) (ALMEIDA et al., 2011). Já em questão da umidade nos méis de *Apis mellifera africanizada* (Lepeletier, 1836), são permitidos 20% de umidade, esse fator está relacionado diretamente com a região que o mel foi obtido e espécie da abelha.

As abelhas fecham os alvéolos quando a umidade se encontra em 18% (SILVA et al., 2013).

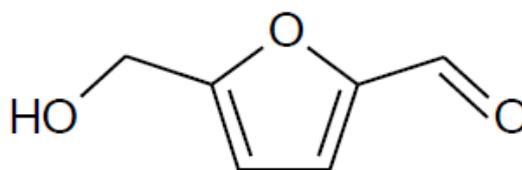
Segundo a instrução normativa nº 11, 20 de outubro de 2000 o pH em mel de *Apis melífera africanizada* (Lepelletier, 1836), deve variar em torno de 4,12 a 4,25, esse parâmetro é importante já que influencia diretamente na textura do mel, na vida de prateleira, na velocidade da formação de HMF, e valores abaixo do mínimo estabelecido pode apresentar fermentação (TERRAB et al., 2004; TURHAN, et al., 2008).

2.3 5 – Hidroximetil-2-furfural (HMF)

Para prolongar sua vida de prateleira, evitar sua cristalização e eliminar os esporos de levedura, o mel passa por um tratamento térmico seguindo um binômio tempo/temperatura sem perder suas características originais (cor, textura, sabor) (WHITE; SICILIANO, 1980; ISLAM et al., 2014). O HMF é o segundo parâmetro mais estudado no mel, e o primeiro a indicar a qualidade deste, em estudos o seu aparecimento vem devido à aplicação de altas temperaturas e armazenamento prolongado, mas também pode acusar que o mel passou por um processo de superaquecimento ou adulteração por adição de açúcar invertido. O HMF também pode indicar a idade do mel, por isso em méis recém-colhidos não há presença de HMF, aumentando conforme o tempo de armazenamento (CASTOLDI, 2014).

Alimentos que contém grandes quantidades de açúcares e que passam por tratamento térmico, apresentam quantidades elevadas de HMF. Por ser um composto resultante de reações enzimáticas, o HMF também é formado via reação de *Maillard*. De acordo com Crane (1985), para cada 10°C acima do estipulado pela legislação a formação de HMF pode aumentar de 4 a 5 vezes. A figura 1 apresenta uma molécula de HMF.

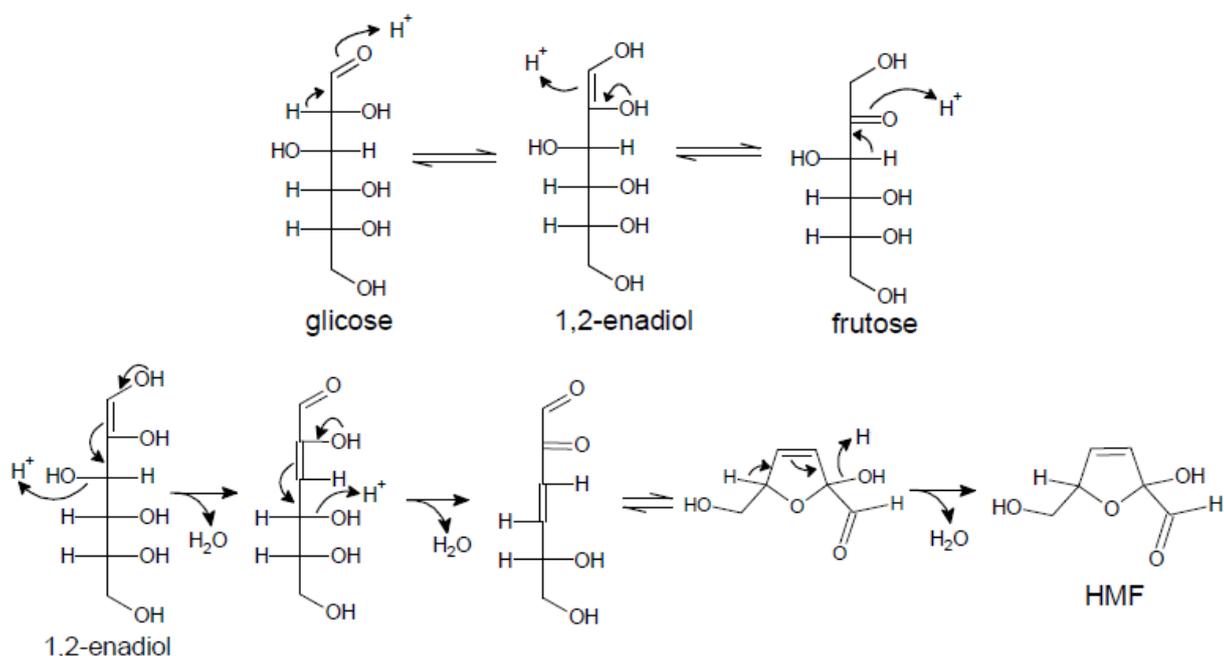
Figura 1: 5-hidroximetil-2-furfural.



Fonte: CASTOLDI, 2014.

O HMF é um composto derivado do aquecimento dos monossacarídeos (frutose e glicose), condições ácidas favorecem o aparecimento deste composto furânico. A reação começa lentamente com o anel dos monossacarídeos se abrindo e produzindo enol altamente instável, que vai seguir de diversas desidratações eliminando as moléculas de água, até que forma o HMF Figura 2 (CASTOLDI, 2014).

Figura 2: Reação de formação do HMF a partir da desidratação dos açucares em meio ácido.



Fonte: CASTOLDI, 2014.

Além do superaquecimento existem outros fatores que podem acarretar na formação do HMF, como pH, tipo de açúcar, presença de ácidos orgânicos, minerais, acidez total, baixa atividade de água e sua origem floral (AJLOUNI; SUJIRAPINYOKUL, 2010).

A determinação da quantidade de HMF no mel é realizada a partir de análises laboratoriais de acordo com a legislação brasileira usando análise espectrofotométrica nos comprimentos de ondas de 284 nm e 336 nm conforme prescrito no método 980.23 da AOAC – Associação Oficial de Químicos Agrícolas dos EUA (1998). Outro fator importante na determinação do HMF se dá pelo seu potencial toxicológico, em méis com alto teor de HMF são tóxicos para as abelhas e que o tratamento térmico não diminui sua toxicidade (WHITE, 1979).

Segundo a Portaria nº 6 de 25 de julho de 1985 o limite para o mel de mesa é 60 mg/kg. Por isso para evitar a formação de HMF no mel deve-se, manter o mel armazenado em condições e em embalagem adequada, ter controle de luminosidade e temperatura do local de armazenamento, processamento e tempo de armazenamento do mel, no processamento deve-se ter total controle de tempo e temperatura, tudo isso de acordo com a legislação brasileira (Brasil, 2000).

3 OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICO

3.1 Objetivo geral

Aplicar os parâmetros de aquecimentos definidos no capítulo II da Portaria nº6 de 25 de julho de 1985 do Ministério da Agricultura - Secretaria de Inspeção de Produto Animal e verificar os respectivos níveis de HMF em amostras de mel de abelhas *Apis mellífera africanizada* (Lepeletier, 1836) a fim de avaliar a veracidade desta portaria..

3.2 Objetivo específico

- Selecionar cinco amostras de mel de diferentes apicultores levando-se em consideração local de colheita, tempo de prateleira e técnica de produção;
- Aplicar os parâmetros de aquecimentos definidos no capítulo II da Portaria nº6 de 25 de julho de 1985 do Ministério da Agricultura - Secretaria de Inspeção de Produto Animal e verificar os respectivos níveis de HMF em amostras de mel de abelhas *Apis mellífera africanizada* (Lepeletier, 1836) a fim de avaliar a veracidade desta portaria.;
- Determinar os respectivos níveis de Hidroximetilfurfural;
- Analisar os dados estatisticamente;
- Verificar a veracidade dos tratamentos aplicados;
- Propor mais estados e/ou alterações desta portaria caso seja pertinente.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais e equipamentos gerais

Para a realização desta análise foram coletadas cinco amostras de méis de *Apis mellifera*, de cinco apicultores diferentes. Na etapa de beneficiamento o mel foi submetido à um aquecimento em banho maria seguindo o binômio tempo/temperatura, onde foram utilizados tubos de ensaio. Já para o preparo da solução e reagentes, foi necessário o uso de béquer de 150 mL, béquer de 50 mL, pipetas de 5,0 mL, balão volumétrico (100 mL e 50 mL), balança analítica, água destilada, papel filtro, cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm e espectrofotômetro (CASTOLDI, 2014).

4.2 Preparo dos reagentes e soluções

De acordo com método 980.23 da AOAC – Associação Oficial de Químicos Agrícolas dos EUA (1998) foi realizado o preparo dos reagentes e soluções para a determinação do HMF. Solução Carrez I: dissolveu-se 15 g de hexacianoferrato de potássio (II) ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) e diluiu em água destilada, em seguida transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL. Solução Carrez II: diluiu-se 30 g de acetato de zinco ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) em água destilada, em seguida transferiu para o balão volumétrico de 100 mL. Solução de bissulfito de sódio 0,20 g / 100 g: dissolveu 0,20 g de bissulfito em água e transferiu-se para o balão volumétrico de 100 mL.

4.3 Preparo da amostra

Seguindo metodologia descrita por White (WHITE, 1979), a determinação do HMF foi realizada a partir da diluição 5g de mel em 25 mL de água usando béquer de 50 mL. Este volume foi transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 50 mL, onde se adicionou 0,5 mL da solução Carrez I e 0,5 mL de solução Carrez II. O Volume do balão foi completado com água destilada e homogeneizado. Em seguida a solução foi filtrada em papel filtro, onde os primeiros 10 mL do filtrado foram rejeitados.

O mel passou por um tratamento térmico realizado em triplicata para cada uma das amostras seguindo binômio tempo/temperatura determinado pela portaria nº6, de 25 de julho de 1985, esses dados estão representados na tabela 1.

Tabela 1- Binômio temperatura/tempo.

Temperatura (°C)	Tempo
52,00	470 min
54,5	170 min
57,0	60 min
59,5	22 min
65,5	7,5 min
65,5	2,8 min
68,0	1,0 min
71,1	24,0 seg

Fonte: BRASIL, 2000.

Para que fosse possível determinar o parâmetro de HMF presente nas amostras de mel, a tabela 2 traz a informação de como foi preparado os tubos de referência e amostra, para que fosse feita a leitura no espectrofotômetro.

Tabela 2: Preparo dos tubos de referência e amostra para leitura do parâmetro de HMF.

	Solução de referência	Solução da amostra
Amostra	5,0 mL	5,0 mL
Água	-	5,0 mL
Bissulfito de sódio 0,2%	5,0 mL	-

Fonte: WHITE, 1979.

Após o preparo dos tubos, as amostras tiveram suas absorvâncias medidas no espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 284 nm e 336 nm.

4.4 Cálculo e expressão dos resultados

Na metodologia de White (1979) temos a equação que determinou a concentração de HMF presente no mel. A medida espectrofotométrica foi realizada na região UV à 284 nm, porém nessa medida existem compostos do mel que interferem na leitura, por isso a mesma amostra foi medida em 336 nm. Para a determinação da concentração HMF foi feita a diferença entre as duas medidas, como mostra a equação (1).

$$\frac{HMFmg}{100g} = \frac{(A_{284} - A_{336}) \cdot 14,94 \cdot 5}{g \text{ da amostra}} \quad (1)$$

Onde:

A_{284} = absorvância à 284 nm

A_{336} = absorvância à 336 nm

O valor de 14,94 representa a massa molar e a absorvidade molar do HMF, e 5 a massa teórica do mel (WHITE, 1979; HORWITZ, 2005; BOGDANOV, 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

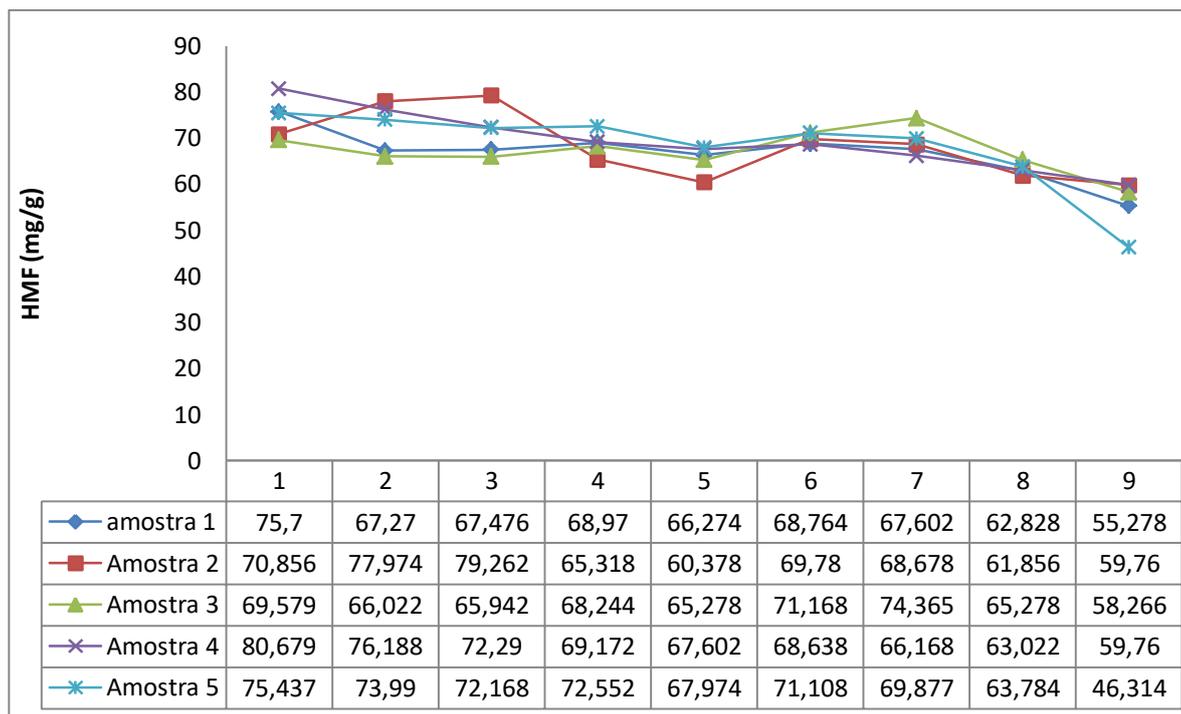
Por ser constituído de açúcares e carboidratos que podem ser absorvidos por hidrólise, o mel se torna um produto altamente submetido a alterações físico-químicas ou adulterações. Para retardar a cristalização do mel e evitar a formação de esporos e leveduras, este produto passa por um processo térmico. Esse aquecimento ajuda no processamento do produto, mas em contrapartida altas temperaturas aumentam a formação do HMF diminuindo o padrão de qualidade do mesmo (CASTOLDI, 2014). Por isso, a determinação de HMF é uma das principais análises para determinar qualidade do mel, avaliando as condições de processamento e armazenamento deste produto (FURTADO, M.A.M. OLIVEIRA, K.M.G.; SEGHE TO, L., 2007). Os resultados para a determinação do HMF estão demonstrados na tabela 3.

Tabela 3: Dados de HMF (mg/g) das amostras de mel seguindo o binômio tempo x temperatura.

Nº de tratamentos	Binômio t x T	HMF (mg/g) das amostras tratadas				
		1	2	3	4	5
1	29 s x 71,1°C	75,7	70,298	69,679	80,679	75,437
2	1 min x 68°C	67,27	77,974	66,022	76,188	73,99
3	2,8 min x 65,5°C	67,476	79,262	65,942	72,29	72,168
4	7,5 min x 65,5°C	68,97	65,318	68,244	69,172	72,552
5	22 min x 59,5°C	66,274	60,378	65,278	67,602	67,974
6	60 min x 57°C	68,764	69,78	71,168	68,638	71,108
7	170 min x 54,5°C	67,602	68,678	74,365	66,168	69,877
8	470 min x 52°C	62,828	61,856	65,278	63,022	63,784
9	Sem tratamento	55,278	59,76	58,266	59,76	50,3

Fonte: Autoral, 2019.

Figura 3: Efeito do tratamento térmico nas amostras.



Fonte: Autoral, 2019.

Conforme apresentado na tabela 3, é possível perceber que assim como descrito na literatura, o superaquecimento do mel aumenta gradativamente a quantidade de HMF e conforme Crane (1985), para cada 10°C acima do estipulado pela legislação a formação de HMF pode aumentar de 4 à 5 vezes.

As amostra sem tratamento térmico não apresentam valores de HMF superiores que 60 mg/g, as qualificando-as para o consumo humano. Os valores de HMF obtidos com a aplicação do tratamento estão acima do prescrito pela instrução normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000 que determina HMF (60mg/g) (BRASIL, 2000). Em parte, esses valores se justificam já que os méis foram obtidos meses antes da análise ser realizada tendo um longo período de armazenamento. Sendo assim, tempo de exposição em temperaturas elevadas e armazenamento prolongado contribuiu para a formação deste composto. No presente trabalho o objetivo foi determinar a atuação do tratamento térmico na formação de HMF, não sendo possível comprovar se houve adulteração com açúcar invertido, para isso seriam necessárias outras análises.

Com os valores obtidos na análise é possível notar que o binômio mais aplicável é o de 470 min x 52, pois não se distanciou muito do máximo determinado

de 60 mg/g. Com isso, comprova a veracidade da portaria nº 6 de 25 de julho de 1985. Aplicando a análise estatística da ANOVA ao nível de 5% significância, foi possível determinar se houve ou não diferença significativa entre os tratamentos aplicados, assim como apresentado na tabela 4 (BRASIL, 2000).

Tabela 4: Análise de variância entre as amostras ao nível de significância $p < 0,05$.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	1022,338	8	127,792199	11,3559	7,43E-08	2,208518
Dentro dos grupos	405,1214	36	11,2533717			
Total	1427,459	44				

Fonte: Autoral, 2019.

Assim como demonstrado na tabela 4, há diferença significativa entre os tratamentos, já que, $F_{calculado} > F_{crítico}$. Assim como, o valor-P encontra-se abaixo do nível de significância de 5% havendo diferença significativa entre os tratamentos aplicados, existindo pelo menos um dos tratamentos com diferença significativa entre si. Para verificar em qual dos tratamentos houve diferença significativa, foi aplicado o desvio padrão na média das médias dos tratamentos. Esses dados estão expressos na tabela 5:

Tabela 5: Desvio padrão entre as médias das médias dos tratamentos térmicos.

Tratamentos	Média
Sem tratamento	57,8756 ^a
24 s x 71,1 °C	74,4502 ^b
1,0 min x 68,0 °C	72,2888 ^b
2,8 min x 65,5 °C	71,4276 ^b
7,5 min x 65,5 °C	68,8512 ^c
22 min x 59,5 °C	66,3012 ^c
60 min x 57,0 °C	69,8912 ^{bc}
170 min x 54,5 °C	69,338 ^{bc}
470 min x 52,0 °C	63,3536 ^d

a,b,c e d – são a diferença entre os tratamentos, sendo seu desvio padrão de 5,0555.

Fonte: Autoral, 2019.

Com a tabela 5, é possível identificar em quais tratamentos houve diferença significativa. Sendo que, a amostra sem tratamento obteve maior desvio padrão em relação às amostras tratadas. Portanto, é possível comprovar que a temperatura tem efeito sobre a formação do HMF.

6 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que, temperaturas elevadas aumentam a quantidade de HMF presente no mel, assim como, seu tempo de exposição a elas. Além do efeito da temperatura outro fator se fez determinante nesta análise, as amostras ficaram meses armazenados o que pode ter auxiliado no aumento de HMF. A veracidade da portaria nº 6, de 25 de julho de 1985, pode ser comprovada já que pelo menos um dos binômios se aproximou do prescrito pela instrução normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Em contra partida a está portaria, outros binômios deveriam ser testados para avaliar se a mesma é a mais aplicável ou se necessária de atualizações.

7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA-SILVA, M.; CANHA, N.; Galinha, C.; DUNG, H. M.; FREITAS, M. C.; SITO, T. **Trace elements in wild and orchard honeys**. Applied Radiation and Isotopes 2011, 69, 1592. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969804311000273?via%3Dihub>>. Acesso: 10 de out.

AJLOUNI, S.; SUJIRAPINYOKUL, P. Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1000-1005, 2010.

BRASIL. Portaria nº6, de 25 de julho de 1985. Ministério da Agricultura e Abastecimento Secretaria de Inspeção de Produto Animal. **Normas Tecnológicas para Mel, Cera de Abelhas e Derivados**. Brasília: MAPA, 1985.

BRASIL, Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Ministério da Agricultura e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel**. Brasília: MAPA, 2000.

CASTOLDI, K. **Desenvolvimento de um método limpo para análise de 5-hidroximetil-2-furfuraldeído em mel. Dissertação apresentada ao curso de Química**. Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/115908/000795971.pdf;jsessionid=CAEC19B5EC481B40AE0DF522F9E266FA?sequence=1>> Acesso: 9 de novembro.

CRANE, E. **O livro do mel**. São Paulo: Noel, 1983

CAMARGO, R. C. R.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; WOLFF, L. F.; **Mel: Características e Propriedades**. EMBRAPA, 2006. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/35907/1/Doc150.pdf>>. Acesso em: 10 de out.

DIDIER, D. HMF (hidroximetilfufural), um indicador da qualidade e segurança do mel. **Food safety Brazil**. 2015. Disponível em: < <https://foodsafetybrazil.org/hmf-hidroximetilfufural-um-indicador-da-qualidade-e-seguranca-do-mel/>>. Acesso em: 24 de junho.

DISCHE, E. **Color reactions of carbohydrates**. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. (Ed.). *Methods in carbohydrates chemistry*. New York: Academic Press, 2008. v. 1.

EMBRAPA, **Criação de abelhas (apicultura)**. Embrapa informação tecnológica Brasília. DF,2007 Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/126300/1/00081610.pdf>>. Acesso em: 10 de setembro.

FEÁS, X. et al. Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 3462-3470, 2010. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691510005880>>. Acesso em: 13 de outubro, 2019.

FURTADO, M.A.M. OLIVEIRA, K.M.G.; SEGHE TO, L. **Padrões de identidade e qualidade em mel – determinação quantitativa de HMF comparada a outros métodos recomendados**. Faculdade de Farmácia e Bioquímica – Departamento de Alimentos e Toxicologia. UFJF – Juiz de Fora, MG, Brasil, 2007. Disponível em: < <HTTP://WWW.UFJF.BR/LAAA/FILES/2008/08/05-7%C2%BA-SLACA-2007.PDF>>. Acesso em: 19 de novembro de 2019.

ISLAM, N. et al. **Toxic compounds in honey**. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, n. 7, p. 733-742, 2014.

JUST, S; NESPOLO, C. **O mel e suas propriedades**. Revista SB Rural, edição 47. 2010. Disponível em: <file:///C:/Users/luiz_/Downloads/caderno_udesc_047%20BOOOM.pdf>. Acesso: 22, outubro de 2018.

Marchini, L. C.; Moreti, A. C. C. C.; Otsuk, I. P.; Sodré, G. S. **Physicochemical composition of Apis mellifera honey samples from São Paulo state, Brazil.** Química Nova 2007, 30, 1653. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040422007000700029&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso: 10 de out.

QUEIROGA, C. F. M. A; FILHO. F. G. L; MACHADO. A, V; COSTA. R, O. **Cadeia produtiva do mel de abelhas: fonte alternativa de gera o de renda para pequenos produtores e qualidade físico-química do mel.** Revista Brasileira de Agricultura, 24 – 30p., V. 5. Garanhuns, 2015. Disponível em: <file:///C:/Users/luiz_/OneDrive/Documentos/Engenharia%20de%20Alimentos%201.2018/pr %20projeto/3681-12147-1-PB.pdf>. Acesso: 23 de outubro de 2018.

SEBRAE. **Conheça o histórico da apicultura no Brasil.** SEBRAE, 2015. Disponível em:< <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/conheca-o-historico-da-apicultura-no-brasil,c078fa2da4c72410VgnVCM100000b272010aRCRD>> . Acesso em 20, agosto de 2018.

SILVA, I.R; BANDEIRA, M.L.S.F. **Caracteriza o dos méis de abelha Apis Mellifera produzidos no extremo sul da Bahia.** Revista eletr nica multidisciplinar pindorama do instituto federal de educa o, ciência e tecnologia da Bahia. Junho de 2012. Disponível em: < <http://www.revistapindorama.ifba.edu.br/files/artigo%2011.pdf>>. Acesso em: 07 agosto 2018.

Silva, P. M.; Gauche, C.; Gonzaga, L. V.; Costa, A. C. O.; Fett, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry** 2016, 196, 309. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615013941?via%3Dihub>>. Acesso: 11 de out.

VIEIRA, L. R; SCHMIDT, F.L. **Cinética de degradação da atividade diastásica com o aquecimento do mel.** UNOPAR. *Cient. Exatas e Tecnol.*, Londrina, v. 13, n. 1, p. 35-38. Novembro, 2014. Disponível em: <<http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/exatas/article/view/334/313>> Acesso em: 21 março. 2018.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, p. R117-R124, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19021816>>. Acesso: 13 de outubro. 2019.

TERRAB, A., RECAMALES, A. F., HERNANZ, D., & HEREDIA, F. J. (2004). **Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents.** *Food Chem.*, 88(4), 537-542.

TURHAN I., TETIK, N., KARHAN, M., GUREL, F., & TAYUKCUOGLU, H. R. (2008). **Quality of Honeys Influenced by Thermal Treatment.** *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1396-1399
Official Methods of Analysis AOAC, No. 980.23, edition 15 (1990). Disponível em : <file:///C:/Users/luiz_/OneDrive/Documentos/Engenharia%20de%20Alimentos%201.2018/pré%20projeto/metodos%20analiticos%20da%20determinação%20de%20hmf%202009.pdf>. Acesso em: 17 de abril de 2018.

WHITE, J. W. Jr. Spectrophotometric method for hydroxymethylfurfural in honey. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, v. 62, n. 3, p. 7-10, 1979.

WHITE, J. W. Jr.; SICILIANO, J. Hydroxymethylfurfural and honey adulteration. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, v. 63, n. 1, p. 7-10, 1980.

