

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CÂMPUS CAMPO MOURÃO - PARANÁ

HERCULES ROCHA MONTENEGRO

**COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
ANTIOXIDANTES DO MEL DE *Tetragonisca angustula* (Latreille,
1811) COLETADO NOS ESTADOS DO PARANÁ E RONDÔNIA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2018

HERCULES ROCHA MONTENEGRO

COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ANTIOXIDANTES DO MEL DE *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) COLETADO NOS ESTADOS DO PARANÁ E RONDÔNIA

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos, do Departamento Acadêmico de Alimentos – DALIM – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – câmpus Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dr^a Maria Josiane Sereia

CAMPO MOURÃO
2018



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Campo Mourão

Departamento acadêmico de Alimentos - DALIM
Engenharia de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ANTIOXIDANTES DO MEL DE *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) COLETADO NOS ESTADOS DO PARANÁ E RONDÔNIA

por

HERCULES ROCHA MONTENEGRO

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 18 de junho de 2018 como requisito parcial para a 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.

Profª. Drª. Maria Josiane Sereia
Orientador

Prof. Dr. Paulo Henrique Março

Prof Dr. Bogdan Demczuk Junior

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Maria Lucia que sempre me incentivou a buscar uma formação acadêmica, pessoa do qual sinto tremendo orgulho e admiração.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná câmpus Campo Mourão pelo apoio concedido por meio de sua infraestrutura e pessoal, em especial ao Departamento Acadêmico de Alimentos, que foram imprescindíveis na minha formação acadêmica.

À professora Dra. Maria Josiane Sereia pela orientação, confiança e ensino a qual tem me acompanhado desde os tempos de iniciação científica.

Ao Professor Dr. Paulo Henrique Março e ao Mestrando e Engenheiro de Alimentos Silvio José Souza pelo auxílio no tratamento da ACP dos quais foram imprescindíveis para a conclusão desse trabalho.

Ao corpo docente do Departamento Acadêmico de Alimentos dos quais sempre demonstraram conhecimento, apoio, incentivo e que sempre estiveram dispostos a ensinar e compartilhar experiências.

Aos meus amigos (antigos e os novos) do qual passamos vários momentos de alegria e apuros, sempre com satisfação e muitas risadas.

RESUMO

MONTENEGRO, H. R. **Comparação das características físico-químicas e antioxidantes do mel de *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) coletado nos estados do Paraná e Rondônia.** 2018. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão.

O mel de abelhas sem ferrão é um produto consumido em grande escala no mundo e desempenha um papel importante na dieta humana, sendo também utilizado na indústria alimentar, farmacêutica e cosmética. Associadas ao seu consumo são atribuídas uma série de propriedades benéficas a saúde, em geral devido às características peculiares principalmente sabor, aroma e excelente potencial nutracêutico. Contudo, são insuficientes os dados sobre sua composição química e seu perfil fenólico visando comprovar suas propriedades. Desta forma, este estudo teve por objetivo comparar amostras de mel de *Tetragonisca angustula* onde foram coletadas 13 amostras de mel no estado do Paraná e 14 amostras de mel no estado de Rondônia. Nessas amostras foram comparadas as características físico-químicas e compostos bioativos aplicando a análise de componentes principais (ACP). Com base nas ACPs obtidas, foi possível distinguir os dois grupos de méis, sendo os dados físico-químicos descritos por 7 componentes principais com 92,15 % da variância total dos dados. As amostras do estado de Rondônia foram as que demonstraram maiores valores de pH, umidade, proteínas, cinzas, flavonoides, índice de formol, fenóis e atividade antioxidante. Enquanto as amostras do Paraná apresentaram os maiores valores de açúcares e sacarose.

Palavras-chave: Abelha Jataí. Abelha sem ferrão. Análise de componentes principais.

ABSTRACT

MONTENEGRO, H. R. **Comparison of physical-chemical and antioxidant characteristics of *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) collected in the states of Paraná and Rondônia.** 2018. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão.

Honey from stingless bees is a product consumed on a large scale in the world and plays an important role in the human diet, used as well in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. Some beneficial health properties are associated with its consumption, usually attributed to its peculiar characteristics, like flavor, aroma and excellent nutraceutical potential. However, the data on its chemical composition and its phenolic profile are insufficient to prove its properties. The objective of this study was to compare samples of honey from *Tetragonisca angustula*, 13 samples of honey in the state of Paraná and 14 samples of honey in the state of Rondônia were collected. In these samples, the physicochemical characteristics and bioactive compounds were compared applying the principal component analysis (PCA) for the physicochemical data. Based on the PCAs obtained, it was possible to distinguish the two groups of honey, the physicochemical data being described by 7 main components with 92.15 % of the total variance of the data. Samples from the state of Rondônia showed the highest values of pH, humidity, proteins, ash, flavonoids, formaldehyde index, phenols and antioxidant activity. While the samples from Paraná presented the highest values of sugars and sucrose.

Keywords: Jataí bee. Stingless bee. Principal component analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Entrada do ninho e operária-guarda-externa de <i>Tetragonisca angustula</i> .	18
Figura 2 - Curva padrão de ácido gálico.	52
Figura 3 - Curva padrão de quercetina.....	53
Figura 4 - Análise dos Componentes Principais dos dados físico-químicos e compostos bioativos com a projeção dos PCs e variáveis que mais influenciaram na discriminação das amostras.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Determinação de umidade por índice de refração.....	30
Tabela 2 - Escala Pfund para determinação da cor do mel.....	36
Tabela 3 – Médias, desvios padrão, valores de t e probabilidade (P) dos parâmetros físico-químicos de 13 amostras de mel de <i>Tetragonisca angustula</i> (Jataí) coletadas no estado do Paraná (<i>T. angustula</i> PR) e 14 amostras coletadas no estado Rondônia (<i>T. angustula</i> RO).....	43

LISTA DE SIMBOLOS

%	Partes por cem
β	Beta
nm	Nanômetros
C-H	Ligação simples entre carbono e hidrogênio
O-H	Ligação simples entre oxigênio e hidrogênio
N-H	Ligação simples entre nitrogênio e hidrogênio
S-H	Ligação simples entre enxofre e hidrogênio
C=O	Ligação dupla entre carbono e hidrogênio
g	Gramma (unidade)
mL	Mililitro
M	Molaridade
meq kg ⁻¹	Miliequivalente por kilograma
°C	Grau Celsius
min	Minutos
$\mu\text{S cm}^{-1}$	Microsiemens por centímetro
mL kg ⁻¹	Mililitro por kilograma
mPa s	Milipascal segundo
mgEAG L ⁻¹	Miligramma equivalente de ácido gálico por litro
μL	Microlitro
g mL ⁻¹	Gramma por mililitro
mgEQ L ⁻¹	Miligramma equivalente de Quercetina por litro
mg mL ⁻¹	Miligramma por mililitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL.....	14
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	A MELIPONICULTURA	15
3.2	CARACTERÍSTICAS DAS ABELHAS SEM FERRÃO.....	16
3.3	CARACTERÍSTICAS DA ABELHA JATAÍ	17
3.4	PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO MEL.....	19
3.4.1	Potencial Hidrogeniônico	19
3.4.2	Acidez Total.....	19
3.4.3	Umidade	20
3.4.4	Proteína Bruta	20
3.4.5	Teor de cinzas	21
3.4.6	Atividade de água	21
3.4.7	Condutividade elétrica	21
3.4.8	Açúcares redutores, redutores totais e sacarose	22
3.4.9	Índice de formol	22
3.4.10	Hidroximetilfurfural.....	23
3.4.11	Cor.....	23
3.4.12	Viscosidade	23
3.5	COMPOSTOS BIOATIVOS	24
3.5.1	Fenóis.....	24
3.5.2	Flavonoides	25
3.5.3	Atividade antioxidante.....	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	27
4.2	REAGENTES	27
4.3	EQUIPAMENTOS.....	28
4.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	28
4.4.1	Potencial hidrogeniônico.....	28
4.4.2	Acidez total	28
4.4.3	Umidade	29
4.4.4	Proteína bruta.....	31
4.4.5	Teor de cinzas	32
4.4.6	Atividade de água	32
4.4.7	Condutividade elétrica	33
4.4.8	Açúcares redutores, redutores totais e sacarose	33
4.4.9	Índice de formol	34
4.4.10	Hidroximetilfurfural.....	35
4.4.11	Cor.....	35
4.4.12	Viscosidade	36
4.5	ANÁLISE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS	36
4.5.1	Fenóis totais	36
4.5.2	Flavonoides totais.....	38

4.5.3	Atividade antioxidante.....	39
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	44
5.1.1	Potencial Hidrogeniônico	44
5.1.2	Acidez total	44
5.1.3	Umidade	45
5.1.4	Proteína bruta.....	46
5.1.5	Cinzas.....	46
5.1.6	Atividade de água	47
5.1.7	Condutividade elétrica	47
5.1.8	Açúcares redutores e açúcares redutores totais	48
5.1.9	Sacarose	49
5.1.10	Índice de formol	49
5.1.11	Hidroximetilfurfural.....	49
5.1.12	Cor.....	50
5.1.13	Viscosidade	51
5.2	COMPOSTOS BIOATIVOS	52
5.2.1	Avaliação do teor de fenóis totais e flavonoides totais	52
5.2.2	Atividade Antioxidante	54
5.3	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS	55
6	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1 INTRODUÇÃO

O mel é um produto de origem animal muito apreciado no mundo devido ao seu aroma, sabor adocicado e composição química com propriedades medicinais (VILLAS-BÔAS, 2012). A definição de mel é dada segundo a Instrução Normativa 11, de 20 outubro de 2000, que aprova o Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel.

Mel é 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 colmeia (MINISTÉRIO..., 2000, p. 1).

Os tipos de mel mais encontrados no comércio são os de abelhas do gênero *Apis*, com nomes populares como: abelhas italianas, africanas, africanizadas ou Europa. Este gênero está distribuído em maior número nos continentes africano, europeu e asiático, sendo a apicultura a atividade agrícola para a obtenção do seu mel. Nas américas, as abelhas nativas produtoras de mel são conhecidas como abelhas sem ferrão (ASF) ou melíponas, sendo denominada de meliponicultura a criação e obtenção de mel dessas abelhas. Esse mel é um produto diferenciado em composição ao mel “tradicional”, além de ter uma produção anual muito inferior de mel que o torna um produto com alto valor agregado (VILLAS-BÔAS, 2012).

A *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) (abelha Jataí), é uma ASF que apresenta pequeno porte, rusticidade e capacidade de adaptação a diferentes climas, produz um mel de excelente qualidade sendo também uma das espécies mais higiênicas dentre as ASF. Possui ainda uma ampla distribuição geográfica pelo Brasil, sendo um dos méis mais apreciados dentre as ASF (NOGUEIRA-NETO, 1997; BALLIVIAN et al., 2008; ANACLETO et al, 2009).

O mel de Jataí é um alimento admirado em função do seu sabor peculiar e de sua qualidade nutricional. Sua composição química varia conforme a espécie de abelha, condições meteorológicas, natureza do solo, estado fisiológico da colônia, origem do néctar e maturação do mel, enquanto o manejo do meliponicultor exerce

menor influência (CARVALHO et al., 2005). Sendo assim, o elevado valor de mercado e sua qualidade, estão normalmente relacionados com sua composição química e sua origem botânica (BORSATO et al., 2010).

O gênero *Tetragonisca* apresenta alto potencial de produção, contudo, devido as especificidades comportamentais e de preferências das duas espécies de ocorrência no Brasil, é possível que os produtos elaborados apresentem características distintas. Ao mel elaborado pelos meliponíneos são atribuídas algumas peculiaridades como ação antioxidante, atividade antisséptica, propriedades terapêuticas específicas, elevada umidade, paladar levemente ácido e perfume característico (KERR; CARVALHO; NASCIMENTO, 1996).

Apesar do mel de ASF apresentar uma grande importância comercial, o Brasil possui apenas uma legislação nacional responsável pela regulamentação desse produto, a Instrução Normativa 11, de 20 outubro de 2000, que estabelece padrões de identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deve cumprir o mel de *Apis mellifera* destinado ao consumo humano direto (MINISTÉRIO..., 2000). Porém os parâmetros e características determinados pela legislação brasileira não são aplicáveis aos méis de ASF, pois possuem características peculiares, devendo ser regulamentados por uma legislação específica.

Atualmente, existem apenas legislações estaduais para este mel, como a Portaria N° 63 de 10 de março de 2017 (AGÊNCIA..., 2017) que regulamenta a identidade e requisitos de qualidade para o mel de ASF destinados ao consumo humano no estado do Paraná. Camargo, (2017) apresentou uma proposta para a regulamentação do mel de ASF para o estado de São Paulo.

Sendo assim, o objetivo do trabalho foi comparar as características físico-químicas e compostos bioativos de amostras de mel de *Tetragonisca angustula* produzidos nos estados do Paraná e Rondônia utilizando métodos analíticos a fim gerar informações que venham contribuir na definição de uma identidade própria e peculiar para o mel dessa espécie, uma vez que estas estão intimamente relacionadas com as variações da florada e do clima local.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar as características físico-químicas e compostos bioativos de amostras de mel de *Tetragonisca angustula* produzidos nos estados do Paraná e Rondônia utilizando métodos analíticos e tratando os dados a partir da ACP.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- ✓ Analisar as amostras de mel com base nas seguintes propriedades físico-químicas: pH, acidez, umidade, proteínas, cinzas, atividade de água, condutividade elétrica, açúcares redutores, açúcares redutores totais e sacarose, índice de formol, hidroximetilfurfural, cor e viscosidade;
- ✓ Analisar os compostos bioativos das amostras de mel com base nos níveis de: fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante;
- ✓ Avaliar as diferenças e semelhanças das amostras a partir de Análise de Componentes Principais (ACP).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A MELIPONICULTURA

A criação de ASF é uma atividade que já era desenvolvida desde séculos atrás. Antes do conhecimento do homem sobre a cana-de-açúcar e a introdução da apicultura, o mel de abelhas sem ferrão era a fonte de açúcar da humanidade, sendo uma atividade praticada principalmente pelas civilizações do Egito antigo (BALLIVIÁN, 2008). Até meados de 1840, as abelhas sem ferrão eram chamadas de indígenas, nativas ou meliponíneos, dando razão as denominações científicas dadas a essas abelhas com bases de origem Tupi. Historicamente, o uso dos produtos dessas abelhas, desde cera para confecção de velas, como parte de uma dieta utilizada pelos índios e colonizadores e até mesmo em rituais religiosos, representando importância para o reconhecimento das abelhas pela humanidade (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Os meliponíneos se apresentam mais concentrados em regiões de clima tropical do planeta, estando presente também em climas temperados. Dessa forma, as abelhas sem ferrão são mais encontradas em países Latino-americanos, mais precisamente entre o Uruguai e o México e ainda Austrália, Indonésia, Malásia, Índia e África (PARPINELLI, 2016).

Atualmente no Brasil, são conhecidas mais de quatrocentas espécies que apresentam suas próprias características de ninhos, populações, cores e tamanhos diferenciados. A distribuição é tão difundida que a nomenclatura se confunde em diferentes regiões do país, devendo-se optar por identificá-las por seus nomes científicos. Ainda com essa diversidade de espécies, o mau uso dessa atividade e o interesse do homem por atividades antrópicas estão afetando essas abelhas, havendo algumas espécies com risco de extinção (NOGUEIRA-NETO, 1997; SOUZA, 2010).

3.2 CARACTERÍSTICAS DAS ABELHAS SEM FERRÃO

Aproximadamente 20.000 espécies de abelhas habitam o planeta, dentre essas espécies as abelhas sem ferrão são classificadas na família *Apidae*, subfamília *Apinae* e tribo *Meliponini*. Diferente das abelhas solitárias, as abelhas sociais se organizam em diferentes níveis dentro de suas colmeias. Dentre milhares de indivíduos que podem viver juntos dentro da colônia, geralmente o grupo tem apenas uma rainha sendo o restante dos indivíduos é representado por zangões e operárias sendo, essas a maioria esmagadora dos indivíduos. Em algumas espécies os zangões podem ou não estarem dentro da colônia, apresentando somente a função reprodutiva (PARPINELLI, 2016).

Com o envelhecimento e povoamento da colônia, chega um momento onde as operárias dão início a divisão da colmeia, procurando um novo local onde podem construir e buscar alimento para que uma nova colônia cresça e prospere como a anterior. Elas preparam, desde materiais de construção a estoque de alimentos. Como toda colônia necessita de uma rainha, muitas vezes elas enviam uma rainha jovem e virgem para essa nova colônia, onde ela poderá acasalar com todos os pretendentes disponíveis e dar início a postura e povoamento (VIT; PEDRO; ROUBNIK, 2013).

Dentro da colmeia, o estoque de alimentos é intensivo e organizado. O mel e pólen são estocados em potes separadamente nos arredores dos potes de cria. O formato dos potes de cria, mel e pólen são diferentes. Potes de cria são esféricos, enquanto de alimento são cônicos ou cilíndricos. As ASF podem utilizar diversos materiais para a construção da colônia, além de cera e cerume. Podem ser utilizados barro, detritos vegetais, fezes de animais e geoprópolis para fazer a impermeabilização da estrutura. Algumas espécies podem nidificar em fendas de árvores, buracos em paredes, no solo, em pedras e até cupinzeiros abandonados (PARPINELLI, 2016).

3.3 CARACTERÍSTICAS DA ABELHA JATAÍ

A meliponicultura está cada vez mais popular no Brasil e dentre as espécies mais exploradas a abelha popularmente conhecida como Jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille, 1811) tem sido alvo dessa atividade. Fisicamente é uma abelha com corpo pequeno e delgado, possui comportamento extremamente eussocial e está presente na América desde o sul do Brasil até o México. É uma espécie bem generalizada, fazendo nidificação em praticamente qualquer região até mesmo em locais onde já existem grandes quantidades de outras abelhas. Constrói ninhos em troncos de arvores, buracos de alvenaria, ninhos abandonados de pássaros principalmente de João-de-barro (SANTIAGO, 2013).

A colônia da Jataí pode conter até 10.000 indivíduos distribuídos entre: uma rainha que realiza a postura dos ovos chegando a 50 ovos por dia, zangões que realizam a fecundação da rainha (apenas um zangão faz a fecundação da rainha) e operárias que realizam as demais atividades da colônia. A Jataí é a única espécie que divide as operárias guardas (seguranças) em dois tipos: operárias internas e operárias externas. As operárias internas fazem a guarda dentro da colônia assim como as outras espécies de ASF, já as operárias externas ficam pairando próximo à entrada da colônia (figura 1). Essa diferença entre as operárias guardas também é observada morfológicamente, onde estas apresentam corpo levemente maior que as demais, enquanto as forrageiras apresentam a cabeça levemente maior (NOGUEIRA-NETO, 1997; SANTIAGO, 2013).

Figura 1 - Entrada do ninho e operária-guarda-externa de *Tetragonisca angustula*



Fonte: Adaptado de Santiago, 2013.

A abelha Jataí produz um mel com sabor muito apreciado, além de ser utilizado na medicina popular e por possuir atividade antimicrobiana, é um mel bastante valorizado, podendo custar até oito vezes mais que o mel de *Apis mellifera*. (NOGUEIRA-NETO, 1997; SANTIAGO, 2013; PARPINELLI, 2016). Segundo Nogueira-Neto (1997) a abelha Jataí é uma das espécies mais higiênicas de ASF, pois é uma abelha que não possui o hábito de coletar fezes de animais para a construção da sua colônia o que definitivamente reduz a incidência de contaminação do mel produzido.

3.4 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO MEL

3.4.1 Potencial Hidrogeniônico

A leitura do potencial hidrogeniônico (pH) de uma amostra de mel se refere aos íons hidrogênio presentes, sendo um parâmetro importante na avaliação e classificação do mel. A presença dos íons pode influenciar na formação de outros compostos como o hidroximetilfurfural, por exemplo. Auxilia na avaliação da qualidade do mel, usado como parâmetro para a acidez total, porém não havendo relação direta com a acidez livre devido a presença de ácidos e minerais com ação tamponante (SANTIAGO, 2013; PARPINELLI, 2016).

O mel de ASF é considerado ácido, com seu pH variando de 3,2 a 4,8. Os valores de pH do mel dependem de outros fatores como a origem botânica do néctar, pH do néctar, solo, concentração de ácidos e minerais. Valores de pH fora do padrão podem indicar um produto que sofreu um processo de fermentação ou até mesmo uma adulteração. O baixo pH do mel representa uma barreira para proliferação de microrganismos indesejáveis, se mostrando um fator relevante que influencia diretamente a vida de prateleira e na qualidade do produto (CARVALHO, 2005; PARPINELLI, 2016).

3.4.2 Acidez Total

A acidez do mel é influenciada pela presença de íons inorgânicos e ácidos orgânicos provenientes de diferentes fontes de néctar. A ação da enzima glicose-oxidase produzida pelas abelhas também altera os valores de acidez que é responsável pela origem do ácido glucônico. Esta enzima continua sua atuação mesmo após o processamento do mel devido a presença de minerais e ação de bactérias na maturação (PARPINELLI, 2016).

Os valores de acidez quando elevados podem representar também uma fermentação devido a presença de bactérias transformadoras de açúcares que podem

ser favorecidas por umidade e temperaturas elevadas. Já os ácidos orgânicos que representam apenas 0,5 % dos sólidos presentes, possuem uma grande influência no sabor e na estabilidade do mel (CARVALHO, 2005; PARPINELLI, 2016).

3.4.3 Umidade

O parâmetro de umidade é um dos mais importantes, pois influencia outros fatores como viscosidade, conservação, maturidade, vida de prateleira e sabor. É influenciado por fatores externos, desde clima da região, estado da colmeia, manejo das abelhas e origem floral do néctar. É um parâmetro de difícil controle, devendo haver um maior cuidado (VILLAS-BÔAS, 2012).

3.4.4 Proteína Bruta

O teor de proteína é utilizado principalmente para identificação de adulteração do produto, além da umidade e concentração. Pouco se conhece sobre as características do material proteico do mel, mas ainda é um parâmetro importante, por ter origem tanto animal como vegetal. O material proteico de origem animal é proveniente da própria abelha, devido as secreções salivares que ocorrem durante a elaboração do mel. As de origem vegetal, são provenientes do néctar e do pólen coletados pelas abelhas no campo. Dentre os aminoácidos mais presentes no mel, se destaca a prolina, já os demais aminoácidos estão presentes em quantidades muito baixas, sendo de origem principalmente da quebra de proteínas oriundas das próprias abelhas (PARPINELLI, 2016).

3.4.5 Teor de cinzas

O teor de cinzas está relacionado com o conteúdo mineral presente no mel. Os principais minerais encontrados são cálcio, magnésio, ferro, cobre, zinco e cádmio que estão presentes nas formas de sulfatos e cloretos. O teor de cinzas está diretamente relacionado com a coloração do mel. Quando este se apresenta escuro, a sua concentração de cinzas é maior se comparado com um mel de coloração clara. Esta diferença pode ser modificada em função de fatores externos como o clima, origem floral, manipulação e a região. Em média, o mel de ASF apresenta um teor de cinzas de 0,17 %, podendo variar dependendo do tipo de mel (ARAUJO, 2013).

3.4.6 Atividade de água

A água é um dos principais componentes dos alimentos, responsável por participar de diversas reações químicas e microbiológicas. Sua presença é determinante nos alimentos estando diretamente relacionada com a vida-de-prateleira dos alimentos. A atividade de água (a_w) é um parâmetro que mede o quão disponível está a água livre de um alimento para que ocorram reações, tanto químicas como microbiológicas. O mel assim como a maioria dos alimentos com altos teores de açúcares é um alimento com média atividade de água, isso confere a ele uma maior estabilidade microbiológica, tornando assim a determinação da água livre essencial para conferir a qualidade e estabilidade do produto (VILLAS-BÔAS, 2012; ARAUJO, 2013).

3.4.7 Condutividade elétrica

A condutividade determina qual a capacidade dos íons presentes no mel de conduzir elétrons. A condutividade auxilia na determinação da origem floral do mel e

também na ocorrência de adulterações. É um parâmetro que possui correlação direta com o conteúdo de cinzas, pH, proteínas e acidez (CARVALHO, 2005).

3.4.8 Açúcares redutores, redutores totais e sacarose

O mel apresenta até 95 % de açúcares em matéria seca, dessa fração, 85 % é representada por monossacarídeos como frutose e glicose sendo esses os açúcares redutores. O mel contém uma maior fração de frutose em relação a glicose, atribuindo a ele uma maior higroscopicidade e sabor mais doce. Já a glicose que é menos solúvel em água, tende a influenciar na cristalização. A presença desses açúcares influencia diretamente em outras propriedades como a viscosidade, densidade, atividade antimicrobiana e valor energético. Os demais açúcares, representando 10 % dos carboidratos são dissacarídeos e trissacarídeos e dentre esses se destacam a sacarose e a maltose. A sacarose é um dos principais indicadores de adulteração do mel, devendo apresentar teores médios de 3 %. Valores com altos desvios da média pode indicar adulteração ou mel verde (BOGDANOV et al., 1997; VILLAS-BÔAS, 2012; PARPINELLI, 2016).

3.4.9 Índice de formol

A determinação do índice de formol representa os teores de compostos aminados como peptídeos, proteínas e aminoácidos. Indica a presença de nitrogênio no mel, sendo um parâmetro de qualidade usado para verificação de adulteração do mesmo. Valores altos do índice de formol podem indicar que as abelhas foram alimentadas com hidrolisados de proteínas, enquanto valores baixos podem indicar adulteração com substâncias sintéticas (ARAÚJO, 2013; PARPINELLI, 2016).

3.4.10 Hidroximetilfurfural

O hidroximetilfurfural (HMF) é um composto formado na reação de Maillard quando ocorre a desidratação de um açúcar (principalmente frutose) em meio acidificado. Pode ser tóxico quando se apresentar em altas quantidades. É um composto encontrado naturalmente no mel e sua determinação funciona como indicador de qualidade. Quando em baixas concentrações pode indicar um produto mais fresco, mas se o produto apresentar altas concentrações pode ser um indicador de adulteração ou um produto que sofreu exposição a altas temperaturas por um tempo prolongado. Altas concentrações de HMF podem ocorrer quando o mel é adulterado com açúcar invertido, for estocado em condições inadequadas, ficar exposto a temperaturas inadequadas e ainda o produto perde o seu valor nutritivo, já que enzimas e vitaminas podem ser destruídas pela ação do calor (CARVALHO, 2005).

3.4.11 Cor

A cor do mel é um parâmetro importante para o consumidor, pois é o primeiro contato com o mel, sendo muitas vezes o único atributo em que o consumidor se baseia para aquisição do produto. A cor é afetada por diversos fatores, desde a origem floral, manejo do produtor, microclima da região, processamento do mel, níveis de frutose e glicose e teor de cinzas, sendo este último o mais significativo (CARVALHO, 2005; VILLAS-BÔAS, 2012).

3.4.12 Viscosidade

A viscosidade está relacionada com a fluidez do mel, sendo um parâmetro muito dependente de outros como o teor de umidade, composição e temperatura do mel. Estudos sobre as propriedades reológicas do mel são importantes para relacionar

as propriedades do fluido com outras grandezas é um parâmetro indispensável no controle de qualidade (PARPINELLI, 2016).

3.5 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os radicais livres são formados por moléculas ou átomos cuja estrutura química possui um ou mais elétrons desemparelhados que são altamente instáveis e reativos. Esses elétrons buscam a estabilidade podendo reagir com a maioria dos compostos orgânicos, causando a oxidação dos mesmos. Os radicais livres são naturalmente formados no organismo como subprodutos de reações de metabolismo e a presença desses radicais está associada ao envelhecimento precoce e ao surgimento de doenças como câncer, doenças cardiovasculares, inflamações, entre outras (SPATH, 2013).

Esses radicais podem ser combatidos a partir de antioxidantes produzidos pelo corpo ou no consumo de alimentos que os contenham. Substâncias antioxidantes são compostos químicos que possuem a capacidade de impedir a oxidação de outros compostos o que acaba evitando a propagação dos radicais livres. Eles possuem diversos meios de atuação e agem de forma benéfica ao corpo (BORSATO, 2013).

3.5.1 Fenóis

Os compostos fenólicos são um dos principais grupos de compostos químicos que atuam de forma antioxidante e estão presentes naturalmente em vegetais. São originados no metabolismo de plantas e atuam como defensores contra radiações ultravioletas e patógenos ou ainda possuem função colorante em alimentos. A função antioxidante dos fenóis se dá pela sua ação redutora de radicais livres ou quelante em íons metálicos pró-oxidantes. Quimicamente, possuem um anel benzênico e um ou mais grupo hidroxila em sua molécula. É um grupo que apresenta grande diversidade, podendo ser dividido em flavonoides e não-flavonoides, que são polifenóis e fenóis simples respectivamente (BORSATO, 2013; BRAGHINI, 2016). Nos estudos de

compostos fenólicos em méis tem se verificado a presença de ácidos fenólicos, principalmente: elágico, benzoico, fenilacético, mandélico, β -fenilático, cafeico, p-cumárico, ferúlico entre outros (BORSATO, 2013).

3.5.2 Flavonoides

Os flavonoides são compostos constituídos por dois anéis aromáticos unidos por uma ponte de três átomos de carbono. Atualmente são conhecidos cerca de 5000 tipos de flavonoides distribuídos em alimentos. Esse número ocorre devido à grande variação que esses compostos podem sofrer com reações de hidroxilação, metilação, acilação entre outras (SPATH, 2013). Os flavonoides estão presentes nos alimentos em dois grandes grupos, as flavonas e os flavonóis. Fazem parte do primeiro grupo a apigenina, tricetina e luteolina, já o segundo é representado principalmente pela quercetina, campferol, rutina e miricetina. A diferenciação e atividade antioxidante dos flavonoides é devido ao número e posição das metoxilas e hidroxilas presentes nos anéis aromáticos. Entre os flavonoides encontrados em méis estão a miricetina, quercetina, campferol, apigenina, galangina, luteolina entre outros (BORSATO, 2013; SPATH, 2013; BRAGHINI, 2016).

3.5.3 Atividade antioxidante

Os agentes antioxidantes com maior presença em alimentos são os grupos fenóis que representam os ácidos fenólicos e os flavonoides. O mel é um alimento com uma expressiva atividade antioxidante, pois nele estão presentes grandes concentrações de grupos fenólicos, que são provenientes do néctar das plantas que as abelhas coletam, mas apesar de serem provenientes de uma fonte vegetal, ainda são influenciadas pelo processamento, manipulação e armazenamento em que esse mel for submetido, porém a origem floral tem maior influência. Além dos grupos fenólicos, algumas enzimas que são encontradas nos méis também fazem parte do grupo de compostos com ação antioxidante. Elas atuam reduzindo o oxigênio

atmosférico em peróxido de hidrogênio, que de certa forma ainda funciona como agente antimicrobiano. Dentre essas enzimas as que se destacam a glicose-oxidase, catalase e peroxidase (SPATH, 2013; BORSATO, 2013; BRAGHINI, 2016).

Para a determinação da atividade antioxidante, podem se utilizar diversos métodos que se baseiam no sequestro de radicais livres que compõe espécies reativas ou radicais livres como o DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil), que é um radical livre estável com a capacidade de aceitar um radical hidrogênio e se estabilizar sofrendo redução na presença de um agente antioxidante. É um método muito utilizado na determinação da ação antioxidante de diversos alimentos, pois não apresenta uma especificidade para nenhum antioxidante e pode ser utilizado para alimentos líquidos ou sólidos (SPATH, 2013; BORSATO, 2013).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram coletadas 13 amostras de mel de *Tetragonisca angustula* no estado do Paraná e 14 amostras no estado de Rondônia entre o período de fevereiro de 2014 a fevereiro de 2015. As amostras foram obtidas de meliponicultores distintos, conforme métodos práticos de colheita de cada produtor. No momento da coleta o mel foi envasado em potes de polipropileno esterilizados e armazenados sob refrigeração à temperatura de 5 °C até o início das análises.

As análises foram realizadas no Laboratório de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), câmpus de Campo Mourão. As amostras foram analisadas *in natura*, sendo realizadas diluições conforme cada procedimento.

Para efeito de cálculos e interpretação dos resultados as amostras foram classificadas de 1 a 14 (amostras de Rondônia) e de 15 a 27 (amostras do Paraná).

4.2 REAGENTES

Hidróxido de sódio P.A. (Dinâmica): Acidez total, proteína bruta e índice de formol; Ácido clorídrico P.A. (Dinâmica): Acidez total; Ácido Sulfúrico P.A. (Dinâmica): Proteína bruta; Metanol P.A. (Enigma): Fenóis totais, flavonoides totais, atividade antioxidante; Ácido Gálico 98 % (Nuclear): Fenóis totais; Quercetina 95 % (Sigma): Flavonoides totais; DPPH 100 % (Sigma): Atividade antioxidante.

4.3 EQUIPAMENTOS

Agitador magnético; Agitador vortex (modelo Biomixer QL901); Balança analítica (modelo Marte AD500); Banho-maria termostático (modelo MA 156 CIRMarconi); Bloco digestor (modelo Tecnal TE 007MP); Condutivímetro (modelo HydroSan Hy 150); Destilador de Kjeldahl; Espectrofotômetro Ultravioleta-Visível (UV-Vis) (modelo Red Tide ocean optics USB 650 UV); Medidor de atividade de água (modelo LabSwift Novasina); Mufla (modelo Cienlab); Potenciômetro (modelo MB10 Marte); Refratômetro; Viscosímetro digital rotativo de bancada (modelo Quimis Q860M21).

4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata e conforme métodos descritos por Sereia et al. (2017).

4.4.1 Potencial hidrogeniônico

O pH foi determinado utilizando-se o método potenciométrico. Pesaram-se em balança analítica 10,0 g de amostra em um béquer de 100 mL, homogeneizaram-se em 75 mL de água destilada. Realizou-se a leitura em potenciômetro calibrado e o resultado foi expresso em unidades de pH.

4.4.2 Acidez total

Pesaram-se em balança analítica 10,0 g de amostra em um béquer de 100 mL, homogeneizou-se em 75 mL de água destilada e foram adicionadas cinco gotas

de indicador fenolftaleína. Com auxílio de um agitador magnético e um potenciômetro calibrado, fez-se uma titulação com hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M até atingir pH de 8,5. Adicionaram-se 10,0 mL de NaOH 0,1 M até pH aproximado de 10, posteriormente a amostra foi titulada com uma solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1 M para retorno do pH a 8,3. Anotou-se o volume gasto em todas as etapas, fez-se a correção dos volumes gastos de HCl e NaOH conforme equações (1) e (2). Calculou-se a acidez livre, lactônica e acidez total conforme equações (3), (4) e (5) respectivamente. Os resultados são expressos em meq kg⁻¹.

$$\text{HCl}_{\text{corrigido}} = V_{\text{HCl}} \cdot \text{fc}_{\text{HCl}} \quad (1)$$

$$\text{NaOH}_{\text{corrigido}} = V_{\text{NaOH}} \cdot \text{fc}_{\text{NaOH}} \quad (2)$$

$$\text{Acidez livre} = \text{NaOH}_{\text{corrigido}} \cdot 10 \quad (3)$$

$$\text{Acidez lactônica} = (10 - \text{HCl}_{\text{corrigido}}) \cdot 10 \quad (4)$$

$$\text{Acidez Total} = \text{acidez livre} + \text{acidez lactônica} \quad (5)$$

Onde:

V_{HCl} = volume gasto de HCl (mL);

V_{NaOH} = volume gasto de NaOH (mL);

fc = fator de correção das soluções (HCl e NaOH) (adimensional);

4.4.3 Umidade

Para a determinação de umidade, utilizou-se o método refratométrico. Adicionaram-se três gotas da amostra no dispositivo refratômetro. Após o ajuste do ângulo limite, a leitura foi feita diretamente na escala (tabela 1). Conforme calibração do refratômetro que é realizada a 20 °C, para leituras em temperaturas diferentes foi feita uma correção de 0,00023 para cada grau Celsius acima ou abaixo da

temperatura de calibração. Para valores de índice de refração não disponíveis na tabela 1, pode-se aplicar a equação (6).

$$y = 614,60 - 400x \quad (6)$$

Onde:

y = umidade (%)

x = índice de refração (°Brix)

Tabela 1 - Determinação de umidade por índice de refração.

Índice de refração (20 °C)	Umidade (%)	Índice de refração (20 °C)	Umidade (%)
1,4740	25,0	1,4865	20,0
1,4745	24,8	1,4870	19,8
1,4750	24,6	1,4875	19,6
1,4755	24,4	1,4880	19,4
1,4760	24,2	1,4885	19,2
1,4765	24,0	1,4890	19,0
1,4770	23,8	1,4895	18,8
1,4775	23,6	1,4900	18,6
1,4780	23,4	1,4905	18,4
1,4785	23,2	1,4910	18,2
1,4790	23,0	1,4915	18,0
1,4795	22,8	1,4920	17,8
1,4800	22,6	1,4925	17,6
1,4805	22,4	1,4930	17,4
1,4810	22,2	1,4935	17,2
1,4815	22,0	1,4940	17,0
1,4820	21,8	1,4946	16,8
1,4825	21,6	1,4951	16,6
1,4830	21,4	1,4956	16,4
1,4835	21,2	1,4961	16,2
1,4840	21,0	1,4966	16,0
1,4845	20,8	1,4971	15,8
1,4850	20,6	1,4976	15,6
1,4855	20,4	1,4982	15,4
1,4860	20,2	1,4987	15,2

Fonte: Adaptado de Sereia et al., (2017).

4.4.4 Proteína bruta

O método de análise é fundamentado na transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio em bloco digestor, o qual é fixado em solução ácida e titulado. Para o preparo da mistura catalítica, pesaram-se 10,0 g de sulfato de sódio e 1,0 g de sulfato de cobre penta-hidratado. Foram triturados em almofariz, homogeneizados e armazenados. No preparo da amostra, pesaram-se 0,5 g de mel em papel vegetal, foram transferidos para os tubos Kjeldahl e adicionados 2,5 g da mistura catalítica e 7,0 mL do ácido sulfúrico (P.A). Na digestão, colocaram-se os tubos das amostras preparadas em bloco digestor, fazendo a elevação da temperatura gradativamente até chegar a 400 °C, sendo mantido por 4 horas. A amostra digerida foi diluída em 10,0 mL de água destilada e encaixada no destilador de Kjeldahl previamente aquecido. Foi encaixado um erlenmeyer de 125,0 mL contendo 15,0 mL de uma solução de ácido bórico 5 % e cinco gotas do indicador misto. Foram adicionados 20,0 mL de uma solução de hidróxido de sódio 50 % no funil de soda do equipamento, posteriormente foi feita a neutralização da amostra até o aparecimento da coloração azul escuro. Após a neutralização foram coletados 50,0 mL do destilado.

O destilado coletado foi titulado com uma solução de ácido clorídrico (HCl) 0,01 M até a coloração rósea. O teor de proteína bruta é calculado conforme equação (7) e expressa em %.

$$\text{Proteína bruta} = \frac{(V \cdot M \cdot fc \cdot 0,014 \cdot 100 \cdot 6,25)}{m} \quad (7)$$

Onde:

V = volume gasto de HCl na titulação (mL);

M = molaridade do HCl;

fc = fator de correção da solução de HCl (adimensional);

m = massa da amostra (g);

6,25 = fator de correção da proteína.

4.4.5 Teor de cinzas

O método fundamenta-se na perda de peso que ocorre quando o produto é incinerado com a destruição da matéria orgânica e sem a perda dos constituintes minerais. Para medir este teor, cadinhos identificados foram aquecidos em mufla a 300 °C por 25 min. Após esse tempo foram armazenados em dessecador por 30 min e posteriormente pesados em balança analítica sendo registrado as suas massas. Pesaram-se 10,0 g da amostra no cadinho identificado, fez-se uma prévia incineração em bico de Bunsen até carbonização. Logo depois, as amostras foram incineradas em mufla a 600 °C por aproximadamente 6 horas. Por fim, foram resfriados em dessecador por aproximadamente 40 min, sendo pesados em balança analítica e registrados as suas massas. O teor de cinzas foi determinado pela equação (8) e expresso em %.

$$\text{Teor de cinzas} = \left[\frac{M1 - M2}{M3} \right] .100 \quad (8)$$

Onde:

M1 = massa do cadinho com as cinzas (g);

M2 = massa do cadinho (g);

M3 = massa da amostra (g).

4.4.6 Atividade de água

Foi utiliza a técnica de determinação do ponto de orvalho em espelho encapsulado utilizando equipamento medidor de atividade de água. Foram adicionados 7,5 mL da amostra no medidor de atividade de água e feita a leitura do resultado no visor do aparelho. O resultado é adimensional.

4.4.7 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica fundamenta-se no fato de que soluções de sais conduzem a corrente elétrica entre dois eletrodos. Pesaram-se 10,0 g da amostra em balão volumétrico, sendo completado o volume de 50 mL com água destilada. A leitura foi feita em condutivímetro e o resultado foi expresso em $\mu\text{S cm}^{-1}$.

4.4.8 Açúcares redutores, redutores totais e sacarose

A determinação de açúcares baseia-se na capacidade dos açúcares redutores (glicose e frutose) reduzirem o cobre presente na solução cuproalcalina (licor de Fehling), que se caracteriza pela redução de íons cúpricos em cuprosos, sendo que os açúcares são oxidados em ácidos orgânicos. Na determinação dos açúcares redutores, foram pipetados 5 mL de uma solução Fehling A e Fehling B para um erlenmeyer de 250 mL sendo adicionados 40 mL de água destilada mais dez esferas de vidro. A solução foi aquecida até ebulição e titulada com a solução para açúcares redutores (concentração 5×10^{-3}) até a solução apresentar coloração arroxeada, foram adicionados cinco gotas de azul de metileno (0,2 %), continuando a titulação até o ponto de viragem identificado pela descoloração do indicador. A determinação de açúcares redutores totais seguiu utilizando os mesmos métodos para determinação de açúcares redutores, porém com uma solução amostra para açúcares redutores totais. Os teores de açúcares redutores, redutores totais foram calculados a partir da equação (9) e o teor de sacarose a partir da equação (10) e os seus resultados são expressos em %.

$$\text{Teor de açúcares redutores (ou redutores totais)} = \left[\frac{(100 \cdot 100 \cdot 0,05)}{0,5 \cdot V} \right] \quad (9)$$

Onde:

V = volume gasto na titulação de açúcares redutores ou redutores totais (mL);

0,05 = fator de correção das soluções de Fehling A e B.

$$\text{Teor de Sacarose} = (\text{ART} - \text{AR}) \cdot 0,95 \quad (10)$$

Onde:

ART = Teor de açúcares redutores totais (%);

AR = Teor de açúcares redutores (%);

0,95 = fator de correção de ART.

4.4.9 Índice de formol

Pesaram-se em balança analítica 10 g de amostra em um béquer de 100 mL, homogeneizaram-se em 75 mL de água destilada e foram adicionadas cinco gotas de indicador fenolftaleína. Com auxílio de um agitador magnético e um potenciômetro calibrado, fez-se uma titulação com hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M até atingir pH de 8,5. Adicionaram-se 10 mL de NaOH 0,1 M até pH aproximado de 10,0 posteriormente a amostra foi titulada com uma solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1 M para retorno do pH a 8,3. O pH foi reduzido novamente para 8,0 com ácido acético 0,1 M. Foram adicionados 5 mL de formalina 35 % e agitado por 1 min. Titulou-se a amostra com NaOH 0,1 M até pH 8,0 e anotou-se o volume gasto. O índice de formol foi determinado pela equação (11), expresso em mL kg⁻¹.

$$\text{Índice de formol} = \text{NaOH}_{\text{corrigido}} \cdot 10 \quad (11)$$

Onde:

NaOH_{corrigido} = volume gasto de NaOH corrigido pela equação (2) (mL);

4.4.10 Hidroximetilfurfural

A determinação do HMF é baseada na leitura da absorbância Ultravioleta (UV) em espectrofotômetro UV-Vis nos comprimentos de onda de 284 nm e 336 nm.

Pesaram-se 5 g da amostra em balão volumétrico de 50 mL, foram adicionados 0,5 mL da solução Carrez I e 0,5 mL da solução Carrez II e completado volume com água destilada. Foram adicionadas duas gotas de etanol, a solução foi homogeneizada e filtrada em papel filtro. Em um tubo de ensaio (tubo amostra) foram pipetados 5 mL do filtrado mais 5 mL de água destilada. Em um segundo tubo (tubo branco) foram pipetados 5 mL do filtrado mais 5 mL da solução bissulfito de sódio 0,2 %. Os tubos foram agitados em agitador vórtex e medidos as absorbâncias em espectrofotômetro UV-Vis nos comprimentos de 284 e 336 nm em cubeta de quartzo. O teor de HMF foi calculado a partir da equação (12). O resultado é expresso em mg kg⁻¹.

$$\text{Teor de HMF} = \frac{(A_{284} - A_{336}) \cdot 149,7 \cdot 5}{P} \quad (12)$$

Onde:

A_{284} = Absorbância da amostra a 284 nm;

A_{336} = Absorbância da amostra a 336 nm;

149,7 = fator de correção;

5 = valor teórico do peso da amostra;

P = peso da amostra (g).

4.4.11 Cor

O método para avaliar a cor do mel baseou-se nos diferentes graus de absorção da luz de vários comprimentos de onda. Colocaram-se 3 mL da amostra em uma cubeta de quartzo sendo realizada a leitura em espectrofotômetro UV-Vis

(calibrado com glicerina P.A.) a 560 nm. A cor foi estabelecida pela tabela de Pfund (tabela 2).

Tabela 2 - Escala Pfund para determinação da cor do mel

Cor	Escala Pfund (mm)	Absorbância (560 nm)
Branco água	Mais de 1 - 8	0,030 ou menor
Extra branco	Mais de 8 - 17	0,030 - 0,060
Branco	Mais de 17 - 34	0,060 - 0,120
Âmbar extra claro	Mais de 34 - 50	0,120 - 0,188
Âmbar claro	Mais de 50 - 85	0,188 - 0,440
Âmbar	Mais de 85 - 114	0,440 - 0,945
Âmbar escuro	Mais de 114	Mais de 0,945

Fonte: Adaptado de Sereia et al., 2017.

4.4.12 Viscosidade

A determinação da viscosidade consistiu na técnica de medição de torque originado pela resistência que o fluido exerce ao movimento rotacional em um viscosímetro. Foram colocados um volume suficiente para submergir o rotor do viscosímetro em um béquer de 250 mL. O béquer foi colocado em banho maria para atingir a temperatura de 25 °C. Ligou-se o viscosímetro e aguardou-se o período de 1 min para estabilização do aparelho sendo anotada a leitura apresentada pelo visor. O resultado foi expresso em mPa s.

4.5 ANÁLISE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

4.5.1 Fenóis totais

A determinação do teor de fenólicos totais foi realizado por método espectrofotométrico utilizando o reagente de Folin-Dennis onde os resultados foram

obtidos por interpolação da absorbância da amostra seguindo uma curva de calibração construída com padrão de ácido gálico (AG) conforme descrito por Sereia et al. (2017, p. 206). Na construção da curva de calibração, pesaram-se 0,1531 g de AG em balança analítica que foram diluídos em metanol para preparar 100 mL de uma solução mãe inicial com 1500 mgEAG L⁻¹. A partir desta concentração, foram obtidas em triplicata, 10 mL de soluções diluídas com 0,30, 180, 330, 600, 900, 1200 e 1500 mgEAG L⁻¹ em metanol, calculadas aplicando a equação (13).

$$\text{Concentração das soluções diluídas de AG (mgEAG L}^{-1}\text{)} = C_{\text{mãe AG}} \cdot V_p \cdot 100 \quad (13)$$

Onde:

$C_{\text{mãe AG}}$ = concentração da solução mãe de AG (mgEAG mL⁻¹);

V_p = Volume pipetado da solução mãe (mL).

Foram transferidos 30 µL das soluções diluídas (no branco colocou-se metanol) 2,37 µL de água destilada e 150 µL do reagente Folin-Ciocalteu em triplicatas, para tubos de ensaio protegidos com papel alumínio. Após dois minutos, foram adicionados 450 µL de carbonato de sódio 15 %. Os tubos foram fechados e mantidos em banho-maria sob agitação no escuro à temperatura de 37 °C por 30 min. As absorbâncias foram medidas em cubetas de quartzo no comprimento de 725 nm em espectrofotômetro UV-VIS.

A partir dos dados coletados, uma curva de calibração foi construída, sendo gerada a equação da reta. Foram pesados 4 g da amostra em uma balança analítica sendo transferido para um balão volumétrico de 10 mL em metanol. Obteve-se uma solução mãe com concentração de 0,4 g mL⁻¹. Dessa solução mãe, foram transferidos 30 µL da amostra (no branco colocou-se metanol); 2,37 µL de água destilada e 150 µL do reagente Folin-Ciocalteu em triplicatas para tubos de ensaio protegidos com papel alumínio. Após dois minutos, foram adicionados 450 µL de carbonato de sódio 15 %. Os tubos foram fechados e mantidos em banho maria sob agitação no escuro à temperatura de 37 °C por 30 minutos.

As absorbâncias foram medidas em cubetas de quartzo no comprimento de 725 nm em espectrofotômetro UV-VIS. Os resultados são expressos mgEAG 100 g⁻¹.

4.5.2 Flavonoides totais

A determinação do teor de flavonoides totais foi realizada por método espectrofotométrico utilizando o reagente de cloreto de alumínio, onde os resultados foram obtidos por interpolação da absorbância da amostra seguindo uma curva de calibração construída com padrão de Quercetina (Q), conforme descrito por Sereia et al. (2017). Na construção da curva de calibração, pesaram-se 0,5263 g de Q em balança analítica que foram diluídos em metanol para preparar 100 mL de uma solução mãe com 5000 mgQ L⁻¹. A partir desta solução mãe, foram obtidas triplicatas com 10 mL de soluções diluídas com 2,5; 5,0; 12,5; 37,0; 50,0; 100,0 e 150,0 mgEQ L⁻¹ em metanol. Foram calculadas com a equação (14).

$$\text{Concentração das soluções diluídas de Q (mgEQ L}^{-1}\text{)} = C_{\text{mãe Q}} \cdot V_p \cdot 100 \quad (14)$$

Onde:

$C_{\text{mãe Q}}$ = concentração da solução mãe de Q (mgEQ mL⁻¹);

V_p = Volume pipetado da solução mãe (mL).

Para obtenção da curva, de cada solução preparada, 250 µL foram transferidos, em triplicatas, para tubos de ensaio protegidos com papel alumínio (no branco colocou-se metanol), 1000 µL água destilada, 75 µL de nitrito de sódio (NaNO₂) 5 % em água. Após cinco minutos foram adicionados 75 µL de cloreto de alumínio 10 % (AlCl₃) em água. Após seis minutos, colocou-se 500 µL de NaOH 1 M e 600 µL de água destilada. Agitou-se vigorosamente em agitador vórtex. As absorbâncias foram medidas em cubetas de quartzo a 425 nm em espectrofotômetro UV-VIS. A partir dos dados coletados, uma curva de calibração foi construída, sendo gerado a equação (18) (equação da reta). Para a determinação, pesaram-se 4 g da amostra em balança analítica sendo transferidos para um balão volumétrico de 10 mL em metanol. Obteve-se uma solução mãe de concentração 0,4 g mL⁻¹. Foram transferidos em triplicatas 250 µL da solução mãe (no branco colocou-se metanol), 1000 µL água destilada, 75 µL de NaNO₂ 5 % em água para tubos de ensaio protegidos com papel alumínio. Após

cinco minutos foram adicionados 75 μL de AlCl_3 10 % em água. Após seis minutos, colocou-se 500 μL de NaOH 1 M e 600 μL de água destilada. Agitou-se vigorosamente em agitador vórtex.

As absorvâncias foram medidas em cubetas de quartzo a 425 nm em espectrofotômetro UV-VIS e os teores de flavonoides totais foram expressos em $\text{mgEQ } 100 \text{ g}^{-1}$.

4.5.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada por meio da capacidade sequestrante do radical livre DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) seguindo método descrito por Sereia et al. (2017). Para a determinação, foram pesados 8,0 g de amostra em balança analítica e transferidos para um balão volumétrico de 10 mL sendo completado com metanol. Obtiveram-se uma solução mãe com 800 mg mL^{-1} . A partir da solução mãe, obteve-se triplicatas de 1,0 mL de soluções diluídas com concentrações de 80,0; 120,0; 200,0; 400,0; 600,0; e 800,0 mg mL^{-1} que foram calculadas a partir da equação (15).

$$\text{Concentração das soluções diluídas (mg mL}^{-1}\text{)} = C_{\text{mãe}} \cdot V_p \cdot 100 \quad (15)$$

Onde:

$C_{\text{mãe}}$ = concentração da solução mãe (mg mL^{-1});

V_p = Volume pipetado da solução mãe (mL).

Para o preparo das amostras, 0,2 mL das soluções diluídas de cada amostra foram transferidas em triplicatas para tubos de ensaio protegidos com papel alumínio, em seguida, adicionaram-se 3,9 mL de solução DPPH 6×10^{-5} . Para o branco, 0,2 mL da amostra foi misturado com 3,9 mL de metanol (cada solução amostra tem o seu próprio branco). O controle negativo foi preparado misturando 0,2 mL de metanol com

3,9 mL de solução de DPPH 6×10^{-5} . Após o preparo, a mistura foi agitada em vórtex por 15 segundos e deixada em repouso à temperatura ambiente na ausência da luz, por 30 min. As absorvâncias das amostras foram medidas em cubetas de quartzo a 515 nm em espectrofotômetro UV-VIS. Os resultados foram expressos em porcentagem da atividade antioxidante (%) utilizando a equação (16).

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = 100 - \left[\frac{(\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}})}{\text{Abs}_{\text{controle neg}}} \right] \cdot 100 \quad (16)$$

Onde:

$\text{Abs}_{\text{amostra}}$ = absorvância da amostra;

$\text{Abs}_{\text{branco}}$ = absorvância do branco respectivo da amostra;

$\text{Abs}_{\text{controle neg}}$ = absorvância do controle negativo da solução de DPPH.

Os valores de EC_{50} foram calculados por regressão linear de parcelas onde a abscissa representa a concentração de extratos de mel testados e a ordenada a porcentagem média de atividade antioxidante de três ensaios separados para cada amostra. A atividade sequestrante do radical livre DPPH foi expressa em termos de EC_{50} (mg mL^{-1}) que representa a concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50 % a concentração inicial do DPPH. Desta forma, quanto menor o seu valor, maior é a capacidade antioxidante dos compostos presentes nas amostras analisadas (NEGRI; POSSAMAI; NAKASHIMA, 2009).

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para análise estatística dos dados foram empregados o método estatístico teste t para comparação das médias e o método multivariado de análise de componentes principais no programa de computador Matlab® (versão R2013b) (PARPINELLI, 2016), de modo a verificar as similaridades e diferenças entre os dados obtidos entre os dois grupos de amostras avaliadas. Este método torna possível a avaliar de modo geral dos dados e explicar a variância total observada entre os dois grupos estudados, bem como, a possível redução do número de variáveis analisadas.

Esta técnica de análise exploratória de dados multivariados permite modificar um conjunto de variáveis correlacionadas num conjunto pequeno de variáveis independentes, simplificando os dados pela redução do número de variáveis necessárias para delinearlos, que são combinações lineares das variáveis analisadas originais, nomeadas por componentes principais, avaliando assim as relações de um conjunto de variáveis entre si (PESTANA; GAGEIRO, 2014), que poderão ser utilizados como indicadores que resumem a informação contida nas variáveis originais. Para isto, as amostras de mel analisadas produzidas pela espécie *T. angustula*, foram comparadas por trazer informações sobre os dois grupos de amostras (*scores*) a fim de observar se as mesmas se diferenciam e os motivos ou cargas que caracterizam tal separação (*loadings*).

Foram comparados os seguintes parâmetros físico-químicos: pH; acidez total (meq kg^{-1}); umidade (%); proteína bruta (%); cinzas (%); atividade de água (*aw*); condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$); açúcar redutor total (%); açúcar redutor (%); sacarose (%); índice de formol (mL kg^{-1}); hidroximetilfurfural (mg kg^{-1}); cor (*Pfund*); viscosidade (mPa s); fenóis totais ($\text{mgEAG } 100\text{g}^{-1}$); flavonóides totais ($\text{mgEQ } 100\text{g}^{-1}$); atividade antioxidante (mg mL^{-1}).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados físico-químicos para as 27 amostras de mel de abelha jataí coletados nos dois estados (Rondônia e Paraná) são apresentados na tabela 3. Podem ser observados os resultados das médias dos dois grupos com seus respectivos desvios-padrão, valores de p e t.

Tabela 3 – Médias, desvios padrão, valores de t e probabilidade (p) dos parâmetros físico-químicos de 13 amostras de mel de *Tetragonisca angustula* (Jataí) coletadas no estado do Paraná (*T. angustula* PR) e 14 amostras coletadas no estado Rondônia (*T. angustula* RO).

Amostras	pH	AT	U	PB	C	aw	CE	ART	AR	SC	IF	HMF	CR	VC	FET	FLT	AA
<i>T. angustula</i> PR (n=13)	3,90a	55,79a	24,79a	0,41a	0,19a	0,71a	809,53a	60,28a	58,89a	1,32a	6,25a	2,76a	0,58a	877,2a	685,6a	293,0a	27,1a
Desvio padrão	±0,40	±36,66	±0,87	±0,18	±0,14	±0,01	±353,12	±3,41	±3,26	±0,46	±3,77	±1,65	±0,26	±313,9	±209,5	±73,2	±9,9
<i>T. angustula</i> RO (n=14)	3,99a	66,67a	24,43a	0,86b	0,37b	0,69b	687,75a	65,42b	64,70b	0,68b	4,45a	1,95a	0,65a	909,4a	514,0b	301,5a	50,1b
Desvio padrão	±0,26	±16,14	±2,06	±0,25	±0,30	±0,04	±203,09	±6,25	±6,47	±0,69	±2,06	±1,13	±0,30	±65,9	±125,9	±391,5	±23,9
Valores de t	0,714	1,004	0,567	5,241	1,889	1,804	1,098	2,545	2,825	2,736	1,539	1,044	1,618	0,375	2,574	1,760	3,11
Valores de p	0,241	0,162	0,288	<0,001	0,035	0,042	0,141	0,009	0,005	0,06	0,068	0,153	0,383	0,355	0,008	0,431	0,002
Padrão legislação vigente		50,00*	20,00*	-	0,60*	-	800,00***	-	65,00**	-	-	60,00*	-	-	-	-	-

pH: potencial hidrogeniônico; AT (meq kg⁻¹): acidez total; U (%): umidade; PB (%): proteína bruta; C (%): cinzas; aw: atividade de água; CE (µS cm⁻¹): condutividade elétrica; ART (%): açúcar redutor total; AR (%): açúcar redutor; SC (%): sacarose; IF (mL kg⁻¹): índice de formol; HMF (mg kg⁻¹): hidroximetilfurfural; CR: cor; VC (mPa s): viscosidade; FET (mgEAG 100g⁻¹): fenóis totais; FLT (mgEQ 100g⁻¹): flavonóides totais; AA (mg mL⁻¹): atividade antioxidante.

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste t (p > 0,05);

* Padrão máximo | ** Padrão mínimo (mel de *Apis mellifera*) - Especificação da norma brasileira (MINISTÉRIO..., 2000).

*** Especificação das normas internacionais (valores máximos) (mel de *Apis mellifera*) - (CODEX..., 1989)

5.1 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

5.1.1 Potencial Hidrogeniônico

Os valores médios de pH não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$) indo de no mínimo $3,90 \pm 0,40$ nas amostras de mel de *T. angustula* PR e máximo de $3,99 \pm 0,26$ nas amostras de *T. angustula* RO (tabela 3). Segundo Crane, (1985) o pH está diretamente relacionado com a composição florística na região de coleta, o qual depende do pH do néctar, além das diferenças na composição do solo ou a associação de espécies vegetais para a composição final do mel. O baixo valor de pH e a elevada acidez são fatores potenciais para a promoção de uma maior vida útil do produto, uma vez que são condições desfavoráveis ao desenvolvimento microbiano (SOUZA et al., 2004).

Souza (2006), analisando 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano obteve valores variando entre 3,15 e 4,66. Em análises de mel de *T. angustula* no estado de São Paulo, Almeida-Anacleto et al. (2009), encontraram valores variando entre 3,54 a 4,64, com média de 4,10 e Cortopassi-Laurino e Gelli (1991), observaram em mel de meliponídeos valores entre 3,20 a 4,80 o qual atribuiu estas diferenças a origem botânica, ao pH do néctar, solo ou associação de vegetais para composição do mel.

5.1.2 Acidez total

Os valores médios de acidez não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$) indo de no mínimo $55,79 \text{ meq kg}^{-1} \pm 36,66$ nas amostras de mel de *T. angustula* PR e máximo de $66,67 \text{ meq kg}^{-1} \pm 16,14$ nas amostras de *T. angustula* RO, mostrando que as amostras provenientes de Rondônia apresentaram teores de acidez mais elevada (tabela 3). Em análises de mel de *T. angustula*, produzidas no estado de São Paulo, Almeida-Anacleto et al., (2009) encontraram valores entre 17,00 a 98,00 meq kg^{-1} , com média de 45,23 meq kg^{-1} . Vit et al. (1998), analisando amostras de mel

venezuelanos observaram variação na acidez para o grupo das abelhas grandes de 9,20 a 69,60 meq kg⁻¹ e para o grupo das abelhas pequenas de 20,00 a 94,00 meq kg⁻¹, mostrando que a espécie de abelhas pode influenciar na composição do mel. Cortopassi-Laurino e Gelli, (1991) e Souza, (2006) avaliaram as características físicas e químicas de amostras de mel de diferentes espécies de meliponíneos provenientes de distintas regiões do Brasil e de diferentes países do continente americano, respectivamente, e verificaram ampla variação de valores indo de 30,00 até 90,00 meq kg⁻¹ para as regiões brasileiras e valores variando entre 5,90 a 109,00 meq kg⁻¹ nos diferentes países do continente americano.

A origem da acidez no mel deve-se, em parte, à variação dos ácidos orgânicos causada pelas diferentes fontes de néctar e ainda a quantidade de minerais presentes (WHITE, 1975). Seu aumento no mel é devido a fermentação realizada pelos microrganismos que pela ação da enzima glicose-oxidase em soluções diluídas é mais ativa, transformam a glicose em ácido glicônico, e peróxido de hidrogênio, responsável pela estabilidade microbiana do mel (PEREIRA et al., 2003). Em uma alta umidade e altas temperaturas são favorecidos estes tipos de reações químicas (ALMEIDA-MURADIAN; MATSUDA; BASTOS, 2007).

5.1.3 Umidade

Os valores médios de umidade não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$) indo de no mínimo 24,43 % \pm 2,06 nas amostras de mel de *T. angustula* RO e máximo de 24,79 % \pm 0,87 nas amostras de *T. angustula* PR (tabela 3). Conti et al., (2007) trabalhando com análises de méis de *Tetragonisca angustula* no estado de Mato Grosso do Sul relataram que os méis de Jataí se mostraram mais aquosos e mais ácidos que os da *Apis mellifera*. Este alto valor de umidade observado para todas as amostras de *Tetragonisca*, independente da espécie, faz com que a atividade da enzima glicose oxidase seja mais intensa, havendo maior produção de ácido glicônico, ocasionando pH relativamente baixo e acidez livre alta (NOGUEIRA-NETO, 1997). Esta alta umidade também exige maior cuidados durante os procedimentos de coleta e no processo de armazenamento, evitando a contaminação por microrganismos que podem causar desvalorização do produto. Os resultados observados no presente

estudo estão de acordo com os obtidos por Evangelista-Rodrigues et al. (2005), Almeida-Muradian, Matsuda e Bastos (2007) e Souza, (2008), que observaram teor de umidade acima de 20,00 %. Almeida-Anacleto et al. (2009) analisando mel de abelha *T. angustula* encontraram valores de umidade entre 23,00 a 32,50 %. Resultados semelhantes foram obtidos em méis de *T. angustula* e *Scaptotrigona defilis*, com valores de 22,70 a 35,40 % por Oliveira, Ribeiro e Oliveira-v, (2013).

5.1.4 Proteína bruta

Os valores médios de proteínas diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$) para as espécies estudadas variando de no mínimo $0,41 \% \pm 0,18$ nas amostras de mel de *T. angustula* PR e máximo de $0,86 \% \pm 0,25$ nas amostras de *T. angustula* RO (tabela 3). Foram observados teores médios consideravelmente maiores nas amostras de mel produzidas pelas abelhas *T. angustula* RO.

Segundo Oddo e Piro, (2004) a maioria das proteínas do mel são enzimas que são introduzidas pelas próprias abelhas no mel, estando em maior quantidade a invertase, a diastase, também designada amilase, a glicose oxidase, a catalase e a fosfatase ácida. Alvarez-Suarez et al. (2010) atribuem o conteúdo de proteína do mel além das enzimas, ao tipo de flora e constituintes do néctar. Estes autores consideram a espécie da abelha determinante nesta variação. Almeida-Anacleto et al., (2009) trabalhando com mel de *T. angustula*, constataram valores variando entre 0,27 a 0,57 %, com média de 0,37 %. Carvalho et al., (2005) e Souza, (2006), analisando mel de diferentes espécies de ASF, verificou valores variando de 0,40 a 2,84 % e 0,09 a 0,90 %, respectivamente.

5.1.5 Cinzas

Os valores médios de cinzas diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$) indo de no mínimo $0,19 \% \pm 0,14$ nas amostras de mel de *T. angustula* PR e máximo de $0,37 \% \pm 0,30$ nas amostras de *T. angustula* RO, mostrando que as amostras

provenientes de Rondônia apresentaram teores de cinzas mais elevados (tabela 3).

Segundo Finola, Lasagno e Marioli (2007) e Ojeda et al. (2004), uma elevada variação do teor de cinzas entre amostras de mel pode significar falta de aplicação de técnicas adequadas pelos meliponicultores para colheita do mel e devido as diferenças relativas ao tipo de material recolhido pelas abelhas durante a procura de alimentos, respectivamente. Este teor de minerais tem uma elevada influência na cor do mel. Méis de cor clara têm geralmente um teor de cinzas mais baixo quando comparados com mel de cor escura (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007). Em análises do mel de *T. angustula* Almeida-Anacleto et al. (2009), encontraram valores variando entre 0,21 a 0,60 %, com média de 0,39 %. Souza (2006), analisando 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano e obteve valores variando entre 0,01 a 1,18 %.

5.1.6 Atividade de água

Os valores médios de a_w diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$) variando de no mínimo $0,69 \pm 0,04$ nas amostras de mel de *T. angustula* RO e máximo de $0,71 \pm 0,01$ nas amostras de *T. angustula* PR (tabela 3). Almeida-Anacleto et al. (2009), trabalhando com amostras de *T. angustula*, obtiveram valores variando de 0,59 a 0,82, com média de 0,66.

5.1.7 Condutividade elétrica

Os valores médios de condutividade elétrica não diferiram entre si ($p > 0,05$) variando de no mínimo $687,75 \mu\text{S cm}^{-1} \pm 210,76$ nas amostras de mel de *T. angustula* RO e máximo de $809,53 \mu\text{S cm}^{-1} \pm 353,12$ nas amostras de *T. angustula* PR (tabela 3). A condutividade elétrica está intimamente relacionada com a concentração de sais minerais, ácidos orgânicos e proteínas (SILVA; AQUINO; RODRIGUES, 2009). O teor de cinzas fornece uma medida direta do resíduo inorgânico após carbonização, enquanto a condutividade elétrica mede todas as substâncias orgânicas e inorgânicas

ionizáveis presentes no mel (ESTEVINHO et al., 2012). Trabalhando com mel de *T. angustula*, Almeida-Anacleto et al. (2009) constataram valores variando entre 1061,00 e 2700,00 $\mu\text{S cm}^{-1}$, com média de 1337,20 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

5.1.8 Açúcares redutores e açúcares redutores totais

Os valores médios de açúcares redutores totais diferiram entre si ($p < 0,05$) variando de no mínimo 60,28 % \pm 3,41 nas amostras de mel de *T. angustula* PR e máximo de 65,42 % \pm 6,47 nas amostras de *T. angustula* RO. Os açúcares redutores diferiram ($p < 0,05$) variando de no mínimo 58,89 % \pm 3,26 nas amostras de mel de *T. angustula* PR e máximo de 64,70 % \pm 6,47 nas amostras de *T. angustula* RO (tabela 3). Segundo Crane, (1987) embora este tipo de mel apresente menor teor de açúcar, o sabor mais doce ocorre uma vez que no produto estão presentes a glicose e a frutose, sendo a frutose predominante, a qual é responsável pela maior doçura e pela alta higroscopicidade do mel. Souza et al. (2004) e Alves et al. (2005) verificaram uma ampla variação dos níveis de açúcares entre méis de diferentes espécies de abelhas sem ferrão, sendo considerado um parâmetro físico-químico que requer regulamentação específica, visto que o valor mínimo de 65,00 % que é o estabelecido pela legislação brasileira para açúcares redutores de mel de *Apis*, não parece aplicável a todos os méis de abelhas sem ferrão.

No trabalho de Oliveira, Ribeiro e Oliveira-v, (2013) os teores de açúcares redutores para as amostras de *Scaptotrigona defilis* e para *T. angustula* variaram de 53,00 e 70,70 %. Em estudos realizados por Evangelista-Rodrigues et al., (2005) para mel de *T. angustula*, o valor encontrado foi 58,19 %. Trabalhando com mel de *T. angustula*, Rodrigues, Marchini e Carvalho, (1998) encontraram como valor médio 59,42 % e Souza, (2006) analisando 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano e obteve valores variando entre 58,00 a 75,70 %. Almeida-Anacleto et al., (2009) trabalhando com amostras de mel de *T. angustula* obtiveram valores de açúcares redutores variando de 48,66 a 57,97 %, com média de 55,46 %.

5.1.9 Sacarose

Os valores médios de sacarose diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$) variando de no mínimo $0,68 \% \pm 0,68$, nas amostras de mel de *T. angustula* RO e máximo de $1,36 \% \pm 0,43$ nas amostras de *T. angustula* PR (tabela 3). Souza, (2006) analisaram 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano e obteve valores variando entre 1,00 a 4,80 %. Almeida-Anacleto et al. (2009) trabalhando com amostras de *T. angustula* obtiveram valores de sacarose variando de 0,13 a 1,87 %, com média de 0,95 %. Em geral, altas concentrações de sacarose podem ocorrer dependendo da origem botânica, pode indicar uma colheita prematura do mel ou que sofreu algum tipo de adulteração (MATEO; BOSCH-REIG, 1998).

5.1.10 Índice de formol

Os valores médios do Índice de Formol não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$) variando de no mínimo $4,45 \text{ mL kg}^{-1} \pm 2,13$ nas amostras de mel de *T. angustula* RO e máximo de $6,25 \text{ mL kg}^{-1} \pm 3,77$ nas amostras de *T. angustula* PR (tabela 3). Este parâmetro representa o total de compostos aminados presentes no mel, o que permite avaliar o conteúdo de proteínas e aminoácidos presentes, o que em síntese distinguem os tipos de méis entre si e de méis falsificados (CRANE, 1985). Em análises de mel de *T. angustula*, Almeida-Anacleto et al., (2009) encontraram valores variando entre 7,00 a 17,20 mL kg^{-1} , com média de 12,14 mL kg^{-1} .

5.1.11 Hidroximetilfurfural

Os valores médios para HMF não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$) variando de no mínimo $1,95 \text{ mg kg}^{-1} \pm 1,17$ nas amostras de mel de *T. angustula* RO e máximo de $2,33 \text{ mg kg}^{-1} \pm 1,65$ nas amostras de *T. Angustula* PR (tabela 3). O HMF

geralmente está presente em pequenas quantidades em mel fresco, mas a sua concentração tende a aumentar em méis armazenados por longo tempo, em condições inadequadas, sujeito a aquecimento excessivo ou adulterações provocadas por adição de açúcar invertido (NOZAL et al., 2001). O conteúdo de HMF no mel também pode ser afetado pela acidez, pH, conteúdo de água e minerais (WHITE, 1975). Segundo Villas-Bôas e Malaspina, (2005) os méis de meliponíneos costumam apresentar quantidade menor de HMF em relação ao mel de *A. mellifera*. E essa diferença pode ser causada por uma série de fatores como local de origem, espécie produtora de mel, temperatura, tempo de aquecimento, pH, condições de estocagem e origem floral, assim como as boas práticas de manejo das colônias.

Em mel de *T. angustula*, Rodrigues, Marchini e Carvalho, (1998) encontraram como valor médio $4,99 \text{ mg kg}^{-1}$. Souza, (2006) analisando 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano, e obteve valores variando entre $0,40$ a $78,40 \text{ mg kg}^{-1}$. Almeida-Anacleto et al., (2009) verificaram valores variando entre $0,75$ a $30,58 \text{ mg kg}^{-1}$, com média de $9,39 \text{ mg kg}^{-1}$ para *T. angustula*. Os méis de melipona de outras espécies também apresentaram valores baixos de HMF ($2,44 \text{ mg kg}^{-1}$) como em *Melipona asilvai* (SOUZA, 2006) e *Melipona mandaçaia* ($5,79 \text{ mg kg}^{-1}$) (ALVES et al., 2005).

5.1.12 Cor

Os valores médios para cor não diferiram ($p > 0,05$) variando de no mínimo $0,58 \pm 0,26$ (absorbância) nas amostras de mel de *T. angustula* PR e máximo de $0,65 \pm 0,31$ nas amostras de *T. angustula* RO (tabela 3). A cor do mel é diretamente afetada pelo teor mineral, teor de compostos fenólicos, teor em flavonoides e os produtos de reação de Maillard que podem ser gerados em função do alto tempo e temperatura de estocagem do mel o que provoca seu escurecimento (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005; SOUZA, 2008). A coloração, bem como o aroma e sabor do mel também podem variar de acordo com a sua origem floral, espécie da abelha, presença de grãos de pólen, sendo esta relação muito dependente da origem botânica do mel (BALTRUŠAITYTĖ; VENSKUTONIS; ČEKSTERYTĖ, 2007).

Neste estudo verificou-se que o mel proveniente do estado do Paraná

apresentou com cor mais clara e menor teor de cinzas, enquanto que mel do Rondônia apresentou uma cor escura e um teor de cinzas superior. Apesar da cor não diferir significativamente ao contrário do teor de cinzas que diferiu. Souza, (2008) analisando 47 amostras de diversas espécies de meliponíneos encontrou valores de absorvância que variaram de 0,111 a 1,369, dentre essas amostras, os méis de *T. angustula* apresentaram valores variando de 0,409 a 1,086. Rodrigues, Marchini e Carvalho, (1998) encontraram como valor médio para mel de *T. angustula* de 0,264 de absorvância, correspondendo a cor âmbar claro da tabela de Pfund. Em análises de mel de *T. angustula*, Almeida-Anacleto et al., (2009) encontraram 50 % das amostras variando entre a cor âmbar e âmbar-extra-claro, prevalecendo a cor âmbar.

5.1.13 Viscosidade

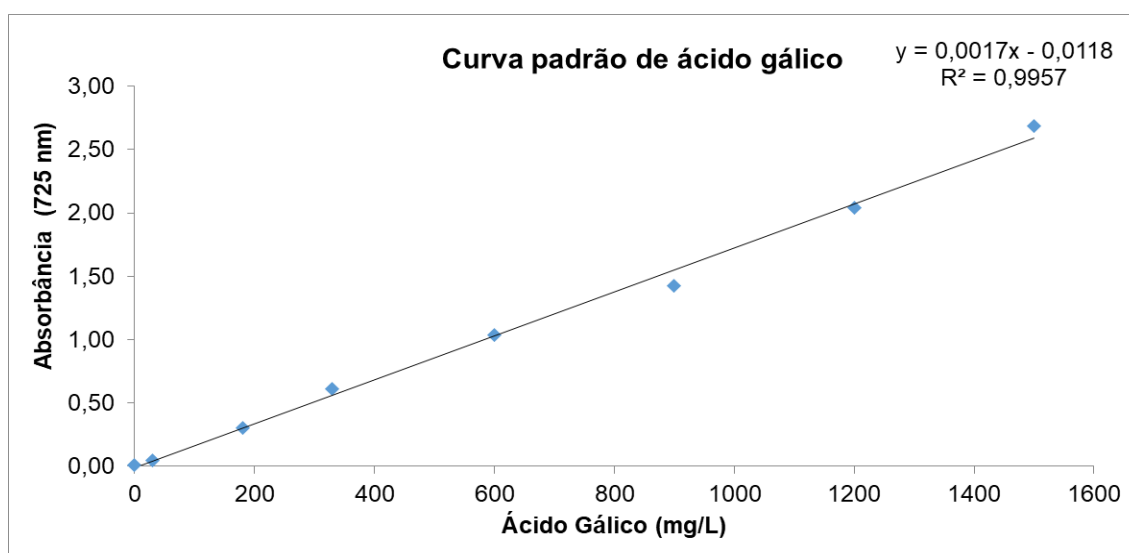
Os valores médios para viscosidade não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$) variando de no mínimo 877,22 mPa s \pm 313,86 nas amostras de mel de *T. angustula* RO e máximo de 909,43 mPa s \pm 65,92 nas amostras de mel de *T. angustula* PR (tabela 3) a 25 °C. Souza, (2008) analisando 47 amostras de diferentes meliponíneos no estado da Bahia encontrou valores de viscosidade variando de 10,00 a 1480,00 mPa s, destacando ainda cinco amostras de *T. angustula* que demonstraram valores de 260,00 a 760,00 mPa s. Este parâmetro é influenciado por fatores como a temperatura, o teor de umidade e a composição química do mel, assim sendo, temperaturas altas e um elevado teor de umidade, originam um mel de baixa viscosidade (COHEN; WEIHS, 2010).

5.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

5.2.1 Avaliação do teor de fenóis totais e flavonoides totais

As curvas padrões de calibração foram obtidas para o teor de fenóis (figura 2) e flavonoides (figura 3), sendo encontrados as equações (17) e (18) (equações da reta).

Figura 2 - Curva padrão de ácido gálico.



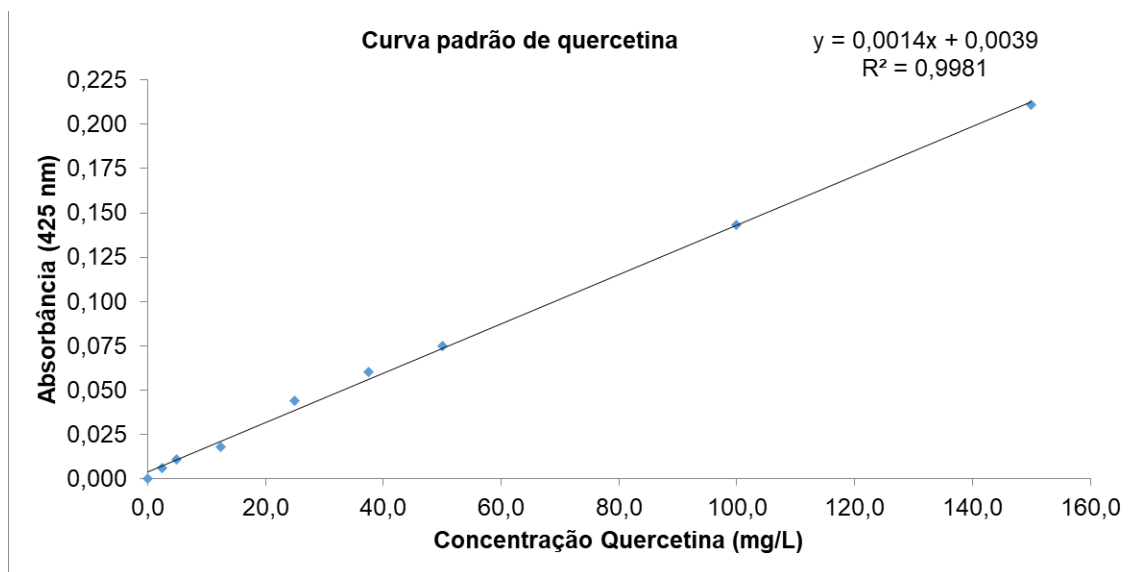
$$y = 0,0017x - 0,0118 \quad (17)$$

Onde:

y = absorvância da amostra a 725 nm;

x = teor de fenóis totais (mgEAG L⁻¹).

Figura 3 - Curva padrão de quercetina.



$$y = 0,0014x - 0,0039 \quad (18)$$

Onde:

y = absorbância da amostra a 425 nm;

x = teor de flavonoides totais (mgEQ L⁻¹).

Os valores médios de compostos fenólicos diferiram significativamente ($p < 0,05$) variando de no mínimo 514,00 mgEAG 100g⁻¹ ± 130,66 nas amostras de mel de *T. angustula* RO e máximo de 685,60 mgEAG 100g⁻¹ ± 209,50 nas amostras de *T. angustula* PR. Os flavonoides totais não diferiram significativamente ($p > 0,05$) variando de no mínimo 293,00 mgEQ 100g⁻¹ ± 73,19 nas amostras de mel de *T. angustula* PR e máximo de 326,33 mgEQ 100g⁻¹ ± 209,65 nas amostras de *T. angustula* RO. O teor de substâncias fenólicas variou significativamente com a espécie mel analisado (tabela 3). A origem botânica pode influenciar na composição de teores flavonoides e fenólicos presentes no mel. Silva (2011) estudando méis de *Melipona subnitida* do estado da Paraíba, encontrou um teor de fenólicos totais que variou de 120,00 a 130,00 mgEAG 100 g⁻¹, enquanto Spath (2013) analisando méis da mesma espécie

no estado da Bahia encontrou valores entre 56,80 e 123,40 mgEAG 100 g⁻¹, ambos inferiores aos encontrados nesse trabalho.

Na literatura, existem diversos relatos apontando os ácidos fenólicos e flavonoides como os principais responsáveis pelo efeito antioxidante do mel, embora não sejam os únicos, devido principalmente a presença de hidroxilas fenólicas nas estruturas dessas substâncias. Os radicais fenoxilas formados são intermediários e bastantes estáveis e atuam reagindo com outros radicais livres bloqueando as reações de propagação da oxidação (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992; MEDA et al., 2005; SANT'ANA et al., 2012).

5.2.2 Atividade Antioxidante

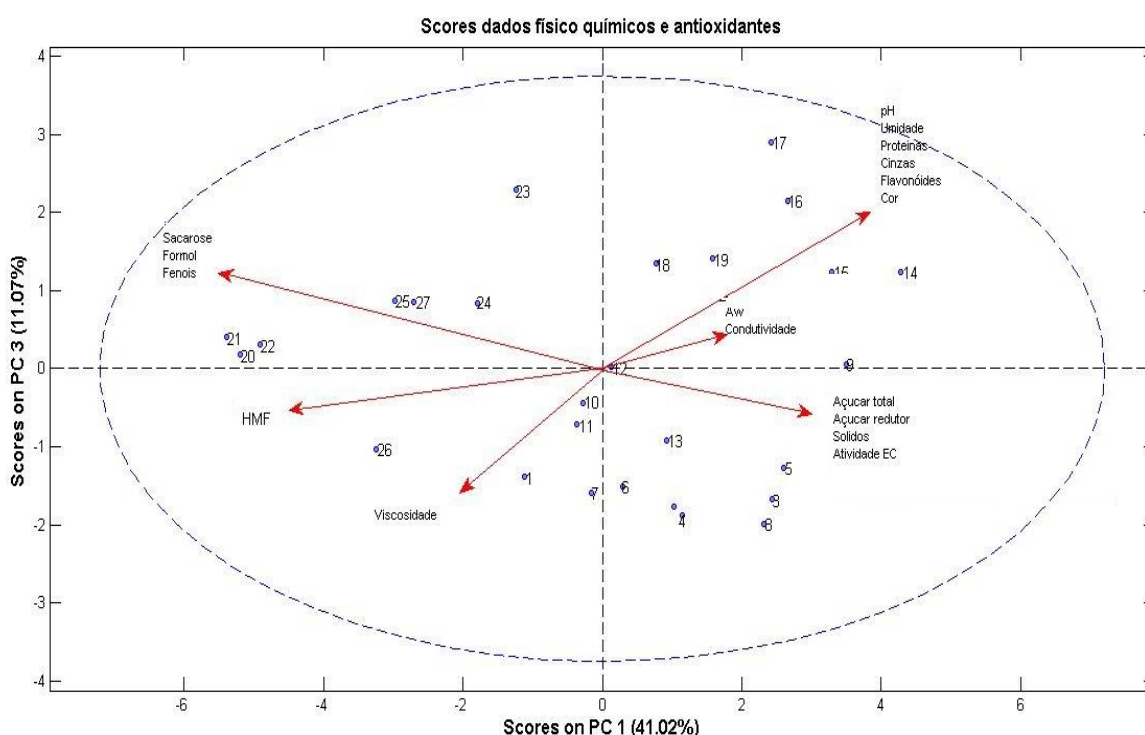
Os valores médios de EC₅₀ diferiram significativamente entre si (p<0,05) variando de um mínimo de 27,11 mg mL⁻¹ ± 9,93 encontrado nas amostras de mel de *T. angustula* PR e um máximo de 50,13 mg mL⁻¹ ± 24,89 nos méis de *T. angustula* RO. Lira et al., (2014) analisando duas amostras de méis de *T. angustula* coletados no estado do Rio de Janeiro encontraram um valor médio de EC₅₀ de 24,80 mg mL⁻¹ ± 0,758. Segundo Negri, Possamai e Nakashima (2009), o valor de EC₅₀ representa a concentração do antioxidante necessária para reduzir em 50 % a ação do radical DPPH, sendo um valor inversamente proporcional ao seu poder antioxidante (1 EC₅₀⁻¹). Quanto menor esse valor, maior será o seu poder antioxidante. Foi possível verificar que as amostras do Paraná apresentaram um poder antioxidante superior que as amostras de Rondônia, este valor variou positivamente com a intensidade da cor e com as concentrações de flavonoides totais e fenóis totais, sendo verificado valores superiores de fenóis totais nas amostras do Paraná (NEGRI; POSSAMI; NAKASHIMA, 2009).

5.3 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

Neste estudo, os dados dos dois grupos de méis analisados foram comparados aplicando-se o teste de comparação de médias (teste t) e Análise dos Componentes Principais (ACP).

Na figura 4 pode ser observada a ACP obtidos a partir dos dados físico-químicos e compostos bioativos. Para este modelo, foram utilizadas sete componentes principais (PCs – *Principal component* em inglês) que descreveram 92,15 % da variância total dos dados.

Figura 4 - Análise dos Componentes Principais dos dados físico-químicos e compostos bioativos com a projeção dos PCs e variáveis que mais influenciaram na discriminação das amostras



A projeção dos resultados foi melhor discriminada pelos componentes principais 1 e 3 que apresentaram variância explicada de 41,02 % e 11,07 %, respectivamente. Pode-se verificar que a componente principal 3 foi a que conseguiu diferenciar os dois grupos de amostras, sendo que em PC3 positivo estão presentes as amostras do estado do Paraná (15 a 27), com exceção das amostras 14 e 26 que

foram discriminadas fora do grupo da sua região. Já em PC3 negativo pode ser observada a maior presença das amostras do estado de Rondônia (1 a 14). No geral estas amostras apresentaram as maiores médias nos parâmetros.

Observando mais detalhadamente, no quadrante positivo de PC1 e 3 estão presentes as amostras 9, 12, 14, 15, 16, 17, 18 e 19. Estas amostras sofreram maior influência das variáveis pH, umidade, proteína bruta, cinzas, flavonoides e cor, além das variáveis atividade de água e condutividade, porém com menor intensidade. Tal separação se deve ao fato de que estas amostras continham menores valores destes componentes. As exceções são as amostras 9 e 12 que tiveram grande influência das variáveis açúcar redutor e redutor total, e atividade antioxidante (atividade EC), que deixou as amostras na fronteira do quadrante inferior, por apresentarem maiores valores dessas variáveis.

No quadrante positivo de PC1 e negativo de PC3, verifica-se a presença das amostras 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 13. Estas amostras sofreram maior influência das variáveis açúcar redutor e redutor total, e atividade antioxidante, que demonstraram os menores valores destes componentes.

Observando o quadrante negativo das PCs, verifica-se a presença das amostras 1, 7, 10, 11 e 26. Estas amostras foram mais influenciadas pelas variáveis viscosidade e hidroximetilfurfural. Tal separação demonstrou menores valores dessas variáveis.

E por fim, observando o quadrante negativo de PC1 e positivo de PC3, verifica-se a presença das amostras 20, 21, 22, 23, 24, 25 e 27, que tiveram maior influência das variáveis sacarose, índice de formol e fenóis totais, tal separação demonstrou que maiores valores de sacarose e menores das demais variáveis. Pode-se observar também que as amostras 20, 21, 22 e as amostras 25 e 27 formaram pequenos grupos dentro do quadrante, demonstrando que provavelmente estas amostras apresentam composições muito mais parecidas do que as demais. Souza (2010), aplicando ACP em 47 amostras de méis de 11 espécies de ASF provenientes do estado da Bahia observou um agrupamento das amostras em nove grupos formados principalmente por amostras de suas respectivas espécies, demonstrando haver diferenças entre os méis de cada espécie.

6 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados nesse trabalho demonstraram que a composição físico-química do mel de Jataí possui características específicas, fornecendo subsídio para que seja estabelecido requisitos mínimos de qualidade e identidade para este produto considerando a sua importância comercial e social. Visto que atualmente a legislação brasileira define padrões para a comercialização de mel de abelha *Apis*, do qual não deveriam ser aplicados a méis de abelha sem ferrão.

Com base na análise de componentes principais dos dados físico-químicos, foi observado que os dois grupos de méis se distinguem entre si, mesmo sendo produzidos pela mesma abelha. Esta análise se mostrou eficaz na separação das amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ. **Portaria Nº 63, de 10 de março de 2017**. Curitiba, PR, 10 mar. 2000.

ALMEIDA-ANACLETO, D. et al. Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille, 1811). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 3, n. 29, p.535-541, ago. 2009.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; MATSUDA, A. M.; BASTOS, D. H. M. Physicochemical parameters of amazon *Melipona* honey. **Química Nova**, v.30, n.1, p.707-708. 2007.

ALVAREZ-SUAREZ, J. M. et al. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8, p. 2490-2499, 2010.

ALVES, R. M. O. et al. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: *Apidae*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, p.644-650, 2005.

ARAÚJO, A. L. L. de. **Estudo da qualidade do mel de abelhas sem ferrão por análise por neutrônica instrumental**. 2013. 108 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

BALLIVIÁN, J. M. P. P. (Org.). **Abelhas Nativas sem Ferrão**. Terra Indígena Guarita: Oikos, 2008. 128 p.

BALTRUŠAITYTĖ, V.; VENSKUTONIS, P. R.; ČEKSTERYTĖ, V. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. **Food Chemistry**, v.101, p.502-514, 2007.

BORSATO, D. M. **Composição química, caracterização polínica e avaliação de atividades biológicas de méis produzidos por meliponíneos do Paraná (Brasil)**. 2013, 153 f. Tese (Doutorado) – Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BRAGHINI, F. **Estabilidade de méis de abelhas sem ferrão (*Meliponinae spp.*) submetidos a diferentes condições térmicas**. 2016. 156 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

CAMARGO, R. C. R. de et al. Mel de abelhas sem ferrão: proposta de regulamentação. **Brazilian Journal Of Food Technology**, [S.l.], v. 20, p.1-6, 2017.

CARVALHO, C. A. L. de et al. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para caracterização físico-química**. Cruz das Almas: Centro de ciências agrárias e ambientais, 2005. 41p.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex standards for sugars (honey)**. Rome: FAO, 1989. 21p.

COHEN, I.; WEIHS, D. Rheology and microrheology of natural and reduced-calorie Israeli honeys as a model for high-viscosity Newtonian liquids. **Journal of Food Engineering**, v.100, p.366-371, 2010.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; GELLI, D. S. Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de Méliponinés du Brésil. **Apidologie**, v. 22, n. 1, p.61-73. 1991.

CRANE, E. **O livro do mel**. São Paulo: Livraria Nobel, 1985. 226p.

_____. **Bee products, properties, applications, and Apitherapy**. United Kingdom: Springer US. 1997.

ESTEVINHO, L. M. et al. Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. **Food and Chemical Toxicology**, v.50, p. 258-264, 2012.

EVANGELISTA - RODRIGUES, A., et al. Análise físico-química de méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v.35, n. 1, p.1166-1171, 2005.

FINOLA, M. S.; LASAGNO, M. C.; MARIOLI, J. M. *Microbiological and chemical characterization of honeys from Central Argentina*. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1649-1653. 2007.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **Abelha urucu: biologia, manejo e conservação**. Belo Horizonte: Fundação Aguangaú, 1996. 143p.

LIRA, A. F. et al. Estudo comparativo do mel de *Apis mellifera* com méis de meliponíneos. **Acta Veterinária Brasileira**, [S.l.], v. 8, n. 3, p.169-178, jan. 2014.

MATEO, R.; BOSCH-REIG, F., Classification of Spanish unifloral honeys by discriminant analysis of electrical conductivity, colour, water content, sugars and pH. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v.46, p.393–400, 1998.

MEDA A. et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**. v.91, p.571-577, 2005.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000**. Brasília, DF, 20 out. 2000.

NEGRI, M. L. S.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa-*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 19, n. 2b, p. 553-556, 2009.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997. 445 p.

NOZAL, M. J. Highperformance liquid chromatographic determination of methyl anthranilate, hydroxymethylfurfural and related compounds in honey. **Journal chromatography A**, v.917, p.95-103, 2001.

ODDO, L. P.; PIRO, R. **Main European unifloral honeys: descriptive sheets**. Apidologie, 2004.

OJEDA R., et al. Characterization of honey produced in Venezuela. **Food Chemistry**, v. 84, p. 499-502, 2004.

OLIVEIRA, K. A. M.; RIBEIRO, L. S.; OLIVEIRA, G. V. Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de mel de abelhas Canudo (*Scaptotrigona depilis*) e Jataí (*Tetragonisca angustula*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.15, p.239-248. 2013.

PARPINELLI, R. S. **Qualidade microbiológica e caracterização físico-química de amostras de mel de abelhas sem ferrão de seis regiões do estado do Paraná**. 2016. 96 f. Tese (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

PEREIRA, F. M. et al. **Produção de mel**. Embrapa Meio Norte, Sistema de Produção, v. 3. 2003.

PESTANA, M. H.; GAGEIRO, J. N. **Análise de Dados para Ciências Sociais. A Complementaridade do SPSS**. Lisboa: Silabo 2014. 6 ed, 1237p.

RODRIGUES, A. C. L.; MARCHINI, L. C.; CARVALHO, C. A. L. Análises de mel de *Apis mellifera* L., 1758 e *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) coletado em Piracicaba-SP. **Revista de Agricultura**, v.73, p.255-262, 1998.

SANT'ANA, L. D'O. et al. Characterization of Monofloral Honeys with Multivariate Analysis of Their Chemical Profile and Antioxidant Activity. **Journal Food Science**. v.71, p.135-140, 2012.

SANTIAGO, L. R. **Variabilidade genética de *Tetragonisca angustula* (hymenoptera, Apidae, meliponini) de meliponários**. 2013. 131 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências Biológicas, Departamento de genética e biologia evolutiva, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SEREIA, M. J. et al. Techniques for the Evaluation of Physicochemical Quality and Bioactive Compounds in Honey. In: TOLEDO, V. de A. A. de. **Honey Analysis**. [S.l.]: Intech, 2017. p. 195-209.

SHAHIDI F.; JANITHA P.K.; WANASUNDARA P.D. Phenolic antioxidants. Critical Reviews. **Food Science and Nutrition**. v.32, n.1, p.67-103, 1992.

SHARAF, M. A.; ILMAN, D. L.; KOWALSKI, B. R. **Chemometrics**. New York: John Wiley & Sons, 1986. 352p.

SILVA, G. S. da. **Avaliação dos parâmetros químicos e potencial antioxidante do mel de jandaíra (*Melipona subnitida* D.)** 2011. 88f. Tese (Doutorado) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

SILVA, R.A.; AQUINO, I.S.; RODRIGUES, A.G. Análise físico-química de amostras de mel de abelhas Zamboque (*Frieseomelitta varia*) da região do Seridó do Rio Grande do Norte. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. n.4, v.3, p.70-76, 2009.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentals of analytical chemistry**. Nelson Education, 2013.

SOUZA, B. de A. et al. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona* (*Hymenoptera: Apidae*). **Ciência Rural**, v.34, 2004.

SOUZA, B de A. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. **Interciencia**, v. 31, 867-875p. 2006.

_____. **Caracterização físico-química e qualidade microbiológica de amostras de mel de abelhas sem ferrão (*Apidae, Meliponinae*) do Estado da Bahia, com ênfase em *Melipona Illiger, 1806***. 2008. 108 f. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo, Piracicaba.

_____. Caracterização dos méis de meliponíneos no Brasil: situação atual e perspectivas. In: **Congresso Ibero-latinoamericano de Apicultura**, 10. Natal. O meio ambiente e a apicultura no agronegócio. Natal: FILAPI: CBA: SEBRAE: FARN, 2010.

SPATH, N. D. C. M. **Avaliação de compostos bioativos em amostras de méis de *Melipona scutellaris***. 2013. 74 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências de Alimentos, Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

VILLAS-BÔAS, J.; MALASPINA, O. Parâmetros físico-químicos propostos para o controle de qualidade do mel de abelhas indígenas sem ferrão no Brasil. **Revista Mensagem Doce**, São Paulo, n.82, 2005.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico: Mel de Abelhas sem Ferrão**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), 2012. 96 p.

VIT, P. et al. Venezuelan stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. **Apidologie**, v. 29, n.1, p.377-389. 1998.

VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBNIK, D. **Pot honey - a legacy of stingless bees**. New York: Springer, 2013. 654p.

WHITE, J. W. Physical characteristics of honey. In E Crane (Eds.), **Honey: a comprehensive survey** (p. 207-239). London: Heinemann. 1975.

YANNIOTIS, S.; SKALTSI, S.; KARABURNIOTI, S. Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperatures. **Journal of Food Engineering**, v.72, p.372-377, 2006.