

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LUCAS MACHADO GONÇALVES

**COMPARAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA ENTRE AMOSTRAS DE MEL DE *Apis mellifera*
AFRICANIZADA E *Tetragonisca angustula***

Trabalho de conclusão de curso

CAMPO MOURÃO

2019

LUCAS MACHADO GONÇALVES

**COMPARAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA ENTRE AMOSTRAS DE MEL DE *Apis mellifera*
AFRICANIZADA E *Tetragonisca angustula***

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Campo Mourão, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

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

CAMPO MOURÃO

2019

AGRADECIMENTOS

À minha família que me deu suporte e incentivo durante todo o período da graduação.

Aos meus amigos pelo companheirismo e diversões ao longo destes cinco anos de curso.

Ao professor Dr. Paulo Henrique Março pelo auxílio com análise de componentes principais presente neste trabalho.

À minhas amigas Larissa Ghirro, Natália Peres e Roberta França pelo companheirismo e trabalho em equipe em diversas atividades ao decorrer do curso.

À minha namorada Mirela Feliciano por estar ao meu lado nos momentos agradáveis e nos difíceis.

À professora Dr^a Maria Josiane Sereia pelo suporte e auxílio na construção deste trabalho.



Departamento Acadêmico de Alimentos

TERMO DE APROVAÇÃO

Comparação físico-química entre amostras de mel *de Apis mellifera* africanizada e *Tetragonisca angustula*

por

LUCAS MACHADO GONÇALVES

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado no dia_ de novembro de 2019 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. Dr^a Maria Josiane Sereia

Prof. Dr. Paulo Henrique Março

Prof Dr Rafael Porto Ineu

Nota: O documento original e assinado pela banca examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR campus Campo Mourão.

GONÇALVES, L. M. **Comparação físico-química entre amostras de mel de *Apis mellifera* africanizada e *Tetragonisca angustula***. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2019.

RESUMO

O mel é um produto consumido no mundo todo por seu sabor agradável além de suas propriedades benéficas para a saúde humana. Trata-se de um produto extremamente variado, visto que suas características físico-químicas variam consideravelmente em função de diversos fatores como clima, vegetação, espécie e hábitos da abelha produtora. Mesmo que seja um produto extremamente variado existe hoje no Brasil apenas uma legislação nacional que o parametriza. Assim este trabalho teve por objetivo avaliar possíveis diferenças entre o mel de duas espécies, *Apis mellifera* africanizada e *Tetragonisca angustula* além de quais variáveis analisadas (pH, acidez total, umidade, cor, fenóis totais, Flavonoides totais e atividade antioxidante) são responsáveis pela diferenciação, utilizando-se análise de componentes principais. Foi verificado então existiam diferenças significativas entre as amostras dos dois grupos de abelhas para os parâmetros analisados, demonstrando então que a espécie de abelha influencia nas características físico-químicas do mel.

PALAVRAS-CHAVE: Análise físico-química. Mel. *Apis mellifera*. *Tetragonisca angustula*.

GONÇALVES, L. M. **physicochemical comparison between *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* honey samples.** Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2019.

ABSTRACT

The honey is a product consumed in all word because of his pleasant taste beside his good properties for the human health. It's extreme variable product, since his physicochemical features has a considerable variation in function of weather, vegetation, specie and bee habits. Even it's a variable product, actually in Brasil There is just one national legislation that parametrize this. This work has the objective of evaluate possible differences between the two species honey, *Apis mellifera* africanized and *Tetragonisca angustula* besides to check which analyzed variables (pH, total acidity, moisture, color, total phenols, total flavonoids and antioxidant activity) are responsible for differentiation. It was found significant differences for the variables, between the two groups of beans, demonstrating that the specie have influence above the physicochemical features.

KEY-WORDS: physicochemical analyses, honey, *Apis mellifera*. *Tetragonisca angustula*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. FUNDAMETAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1. Apicultura.....	14
2.2. <i>Apis mellifera</i>	15
2.3. Abelha sem ferrão (ASF).....	16
2.4. <i>Tetragonisca angustula</i>	16
2.5. Características físico-químicas do mel.....	17
2.5.1. Potencial hidrogeniônico (pH).....	17
2.5.2. Acidez total.....	17
2.5.3. Umidade.....	18
2.5.4. Cor.....	18
2.6. Compostos bioativos e atividade antioxidante.....	19
2.6.1. Fenóis totais.....	19
2.6.2. Flavonoides totais.....	19
2.6.3. Atividade antioxidante.....	20
2.7. Análise de componentes principais (ACP).....	20
3. OBJETIVO.....	21
3.1. Objetivo Geral.....	21
3.2. Objetivo Específico.....	21
3.3. Justificativa.....	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1. Equipamentos.....	23
4.2. Obtenção das amostras.....	23
4.3. Reagentes.....	23

4.4.	Análises físico-químicas	24
4.4.1.	Potencial hidrogeniônico	24
4.4.2.	Acidez total.....	24
4.4.3.	Umidade	25
4.4.4.	Cor	27
4.5.	Análise de compostos bioativos	28
4.5.1.	Fenóis totais.....	28
4.5.2.	Flavonoides totais	29
4.5.3.	Atividade antioxidante	30
4.6.	Análise estatística de dados.....	32
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1.	Características físico-químicas.....	39
5.1.1.	Potencial hidrogeniônico (pH) e acidez	39
5.1.2.	Umidade.....	40
5.1.3.	Cor	40
5.2.	Compostos bioativos	41
5.2.1.	Flavonoides totais	41
5.2.2.	Fenóis totais.....	43
5.2.3.	Atividade Antioxidante.....	44
6.	CONCLUSÃO	46
7.	REFERENCIAS	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Apis mellifera</i>	16
Figura 2 - <i>Tetragonisca angustula</i>	17
Figura 3 – Gráfico de Scores (PC 1 x PC 2) resultante da Análise de Componentes Principais	34
Figura 4 - Gráfico de Loadings resultante da análise de componentes	35
Figura 5 Curva padrão de quercetina	42
Figura 6 Curva padrão de ácido gálico	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Determinação de umidade a partir de valor de índice de refração.	26
Tabela 2 - Escala Pfund para determinação de cor	27
Tabela 3 - resultados das análises Físico-Químicas	36

1. INTRODUÇÃO

Segundo a instrução normativa 11 de 20 de outubro de 2000 do MAPA, mel é um produto alimentício, produzido por abelhas melíferas, a partir das partes vivas das plantas ou secreção de insetos que ficam sobre a parte viva das plantas que são recolhidos pelas abelhas, transformados e combinados com substâncias próprias, para serem armazenados e madurados em favos e colmeia (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2000).

O mel é uma solução supersaturada de açúcar, possui em sua composição outros compostos em menor quantidade como: proteínas, minerais vitaminas, ácidos orgânicos, flavonoides, compostos fenólicos e enzimas como por exemplo; catalase, peroxidase e a glicose oxidase (SIME et al., 2015). O mel é uma substância de composição muito variada, porém pode-se dar uma composição geral deste produto onde 75% são açúcares, 20% água, e 5% outros compostos.

Há variação nos parâmetros físico-químicos do mel estão relacionadas a sua forma de produção, a qual se utiliza do néctar que as abelhas extraem de flores Portanto, a quantidade e qualidade das flores que existem na região de ação das abelhas assim como sua localização e fatores climáticos são alguns dos fatores que influenciam diretamente na composição e conseqüentemente nos parâmetros físico-químicos do mesmo (GOIS et al., 20013).

Este produto é utilizado naturalmente desde os primórdios da humanidade como alimento e até como medicamento. Registros mostram que este produto é o adoçante mais antigo utilizado pelo homem, uma vez que o mel é uma substância doce e de aroma agradável, além de possuir um alto valor nutricional e diversos benefícios para a saúde humana (AJIBOLA; CHAMUNORWA; ERLWANGER, 2012).

O mel é uma substância produzida por diferentes tipos de abelha, e suas características e composições variam de acordo com o néctar utilizado na produção e espécie da abelha produtora. Mesmo que estes fatores influenciem nas características

do produto, a legislação brasileira não possui especificações para o mel comercializado das abelhas nativas (LIRA et al., 2014). A falta de legislação referente ao mel de abelha sem ferrão é resultado de um escasso conhecimento sobre as características deste produto. Assim sendo, os estudos referentes a este produto além de auxiliarem em uma melhor caracterização, também podem vir a auxiliar no controle de qualidade do produto oferecido no mercado, uma vez que o mesmo, em relação aos seus parâmetros de qualidade poderá ser padronizado (ÁVILA, 2019).

As únicas legislações vigentes no Brasil que abordam o mel de abelha sem ferrão são estaduais como a Portaria N° 63 de 10 de março de 2017 que estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) deste produto no Estado do Paraná, e a resolução SAA-52 no estado de São Paulo, de 3 de outubro de 2017 que Aprova Regulamento Técnico de Identidade e Padrão do mel elaborado pelas abelhas da subfamília Meliponinae (Hymenoptera, Apidae), conhecidas por Abelhas sem Ferrão (ASF) e os requisitos de processamento e segurança alimentar para seu consumo humano direto. (MONTENEGRO, 2018).

As abelhas *Melipona sp*, ou ASF são assim chamadas por terem seu ferrão atrofiado. Estas são abelhas nativas brasileiras e eram as únicas produtoras de mel utilizadas até a introdução das abelhas europeias no país (LOPES; FERREIRA; SANTOS, 2005). Além de uma produção menos abundante que justifica seu alto valor de mercado se comparado com o mel de *Apis*, a principal característica que difere o mel da ASF do mel de *Apis* é o teor de umidade que influência diretamente em sua densidade, fazendo com que ele seja um mel menos denso e menos viscoso. Outro fator que também apresenta diferenças é a cor que costuma variar quase do transparente até a cor âmbar escuro (ALVES, 2005).

Estudo realizado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro demonstrou que existem diferenças significativas nas características físico-químicas entre amostras de mel produzidas por abelhas sem ferrão e *Apis mellifera*. Entre os parâmetros analisados neste estudo estavam atividade antioxidante, compostos fenólicos e flavonoides (LIRA et al., 2014) cuja concentração relaciona-se diretamente com os hábitos da abelha, estação do ano e tipos de flores polinizadas (GHELDOLF; WANG; ENGESETH, 2002).

Existe desta forma necessidade da intensificação dos estudos nesta área visando obtenção de dados analíticos e a fundamentação de uma regulamentação técnica para os parâmetros de qualidade do mel de abelha sem ferrão que necessita ser criada visto que se trata de um produto com característica singular.

2. FUNDAMETAÇÃO TEÓRICA

2.1. Apicultura

As abelhas mantem uma estreita relação de dependência recíproca “simbiose” com as plantas há muito tempo, onde as flores fornecem o néctar e pólen indispensáveis para a sobrevivência das abelhas, que em contra partida transportam parte do pólen aderido em seu corpo até outras plantas promovendo a fecundação das flores e formação dos frutos (BACAXIXI et al., 2011).

Nós primórdios da humanidade o homem não possuía o domínio sobre a produção do mel, então para se alimentar ele caçava os enxames para encontrar a colmeia e consumia de uma forma integral (sem a separação do mel) causando a morte do enxame e obrigando o homem então a procurar uma nova colmeia. Somente em 400 a.C. é que o mel começou a ser armazenado em recipientes sendo considerado uma substância sagrada e sinônimo de riqueza em algumas civilizações (EMBRAPA, 2003).

As abelhas pertencem ao reino Animalia, Filo Arthropoda, Classe Insecta, Ordem Hymenoptera, Superfamília Apoidea que se divide em três famílias: Apidae, Anthophoridae e Megachilidae. As abelhas produtoras de mel são da família Apidae (GALLO et al., 2002). As abelhas têm seu corpo dividido em cabeça, tórax e abdome. Estes animais também possuem um exoesqueleto (esqueleto externo), que protege os órgãos, evitam a perda de água e dão sustentação para os músculos. O aparelho bucal é do tipo lambedor e sua mandíbula é adaptada para realizar molde de cera e corte de vegetais, com um lábio inferior alongado e antenas genículas. Também possuem concavidades na tíbia posterior chamadas corbículas que possuem a função do transporte de pólen (EMBRAPA, 2003)

Três principais castas compõem as abelhas melíferas onde a rainha é responsável por colocar os ovos, o zangão por acasalar com a rainha e as operárias. A idade da rainha afeta na capacidade de geração de ovos e, graças a isso é aconselhado que a mesma seja trocada anualmente (SANTOS, 2002).

A formação do mel ocorre após abelhas operárias levarem néctar e água até os alvéolos do favo; A água do néctar então evapora e são acrescentadas enzimas que transformam os açúcares complexos em açúcares simples (glicose e frutose) equando o mel se torna maduro a célula então é selada (BACAXIXI et al., 2011).

2.2. *Apis mellifera*

A abelha está associada diretamente com a polinização das plantas e com isto também à regeneração do ecossistema. Outra importância das abelhas é em relação à produção de mel. A principal abelha da apicultura é a *Apis mellifera* (Figura 1). Esta não é uma espécie nativa, pois surgiu do cruzamento acidental entre subespécies de *Apis mellifera* europeias com a subespécie africana *Apis m. scutellata*. Foram então herdadas características como tolerância ao clima e capacidade enxameação das abelhas africanas. Porém, a agressividade característica destas abelhas também foi herdada, o que é um fator que exigiu adaptações no sistema de apicultura (SANTOS; MENDES, 2019).

No Brasil esta espécie se espalhou por diversos ambientes sendo eles rurais ou urbanos, porém em ambientes mais preservados e em florestas húmidas pôde-se notar uma presença menos intensa. Por se tratar de uma espécie exótica, existe uma grande discussão na comunidade científica em relação às consequências que abelhas podem causar no ambiente e em relação à competitividade de nutrientes com as abelhas nativas (MINUSSI; ALVES-DOS-SANTOS, 2007).

As colônias de *Apis mellifera* contêm ente 50 e 60 mil indivíduos, onde cerca de 400 são zangões, 1 rainha e os demais são operários. Enquanto a rainha e os zangões executam a tarefa de reprodução por toda sua vida as operárias mudam de função conforme envelhecem. A rainha vive cerca de 2 anos e pões algo em torno de 2000 ovos a cada dia (STRAMM, 2011).

Figura 1 - *Apis mellifera*



2.3. Abelha sem ferrão (ASF)

Existem mais de 300 mil espécies de abelha sem ferrão no Brasil. Este tipo de abelha é encontrado nas faixas tropicais e subtropicais do planeta assim como em grande parte da América Latina (NOGUEIRA-NETO, 1997). O mel possui na maioria das vezes um alto valor de mercado chamadas de princesas. (EMBRAPA, 2017).

2.4. *Tetragonisca angustula*

A *Tetragonisca angustula* (Figura 2) ou abelha Jataí, como é popularmente conhecida é uma espécie de abelha sem ferrão, de pequeno porte e encontra-se em diversas regiões do Brasil, sendo capaz de produzir de 0,5 a 1,5 litros de mel por ano. Embora produza mel em pequena quantidade quando comparado a *apis mellifera*, a Jataí elabora um produto de alta qualidade com aroma e doçura peculiares, atraindo consumidores dispostos a pagar altos valores pelo produto. (ANACLETO, 2009).

Figura 2 - *Tetragonisca angustula*



2.5. Características físico-químicas do mel

2.5.1. Potencial hidrogeniônico (pH)

O potencial hidrogeniônico (pH) é um fator de extrema importância quando se fala de conservação de alimentos já que a deterioração através de microrganismos assim como alterações físico-químicas estão diretamente ligadas a esta propriedade. (GOIS, 2013).

Os méis apresentam valores de pH entre 3 e 5,5, sendo que alguns fatores podem influenciar nestes valores de pH. Dentre eles, pH do néctar, solo, vegetais utilizados na composição do mel e as substâncias mandibulares acrescentadas ao néctar durante o transporte até a colmeia. Valores diferentes de pH também podem estar relacionados a adulteração ou fermentação (GOIS, 2013).

2.5.2. Acidez total

A quantificação da acidez total é usual em trabalhos relacionados à análise físico-química devido ao fato de ser um eficiente indicador da qualidade de alimentos tanto de

origem vegetal quanto de origem animal. A acidez presente nos alimentos é proveniente de ácidos orgânicos ou da presença de ácidos adicionados ao mesmo. Os ácidos orgânicos podem influenciar em vários aspectos dos alimentos como odor, sabor e estabilidade (SOUZA et al., 2010).

No mel a acidez se dá pela presença de minerais e ácidos orgânicos, sendo conhecidos pelo menos 18 tipos diferentes de ácidos orgânicos na composição do mel. O ácido glucônico é o principal ácido orgânico na composição desta substância, e é resultante da ação de enzimas (glicose-oxidase) provenientes das glândulas hipofaríngeas nas abelhas e da ação microbiana no processo de maturação do mel (ALVES, 2008).

2.5.3. Umidade

Todo alimento, independente do processo industrial por qual tenha passado, possui água em sua estrutura. A umidade é dada pela perda de peso que um alimento sofre ao ser submetido à aquecimento capaz de retirar a água presente no mesmo (ZENEON, 2005).

A umidade é uma das análises mais importantes quando se trata de qualidade de alimento, visto que está diretamente ligada a composição e estabilidade além de ser o principal fator referente ao crescimento microbológico, o que influencia também na vida de prateleira dos produtos (PARK; ANTÔNIO, 2006)

A água representa o segundo composto mais abundante na composição do mel, e influencia a viscosidade, peso específico, maturidade, conservação e sabor. Microrganismos presentes no mel podem vir a fermentar os açúcares em casos de umidade elevada (GOIS, 2013).

2.5.4. Cor

Muitos fatores influenciam na coloração do mel, tais como: origem floral, processamento, armazenamento e fatores climáticos. Esta coloração é bem variada podendo ir desde uma coloração quase transparente até o marrom escuro. Os méis de coloração mais escuras geralmente são mais ricos em sais minerais e substâncias essenciais. Os méis mais claros são geralmente os de maior valor de mercado, não por uma questão de qualidade real do produto, mas sim por uma exigência do consumidor (SOARES; AROUCHA, 2010).

2.6. Compostos bioativos e atividade antioxidante

2.6.1. Fenóis totais

Os compostos fenólicos são substâncias químicas que possuem sua estrutura variada formada por anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos. Existem cerca de cinco mil tipos desta substância onde alguns se destacam como os flavonoides, ácidos fenólicos, tocoferóis, taninos entre outros. Os fenóis são muito conhecidos por sua atividade antioxidante, ou seja, possui a capacidade de parar reações em cadeia, podendo doar elétrons ou hidrogênio ao radical livre que por sua vez passa a ser estável (ANGELO; JORGE 2007).

Os compostos fenólicos agregam ao mel a característica de alimento funcional, e esses compostos podem ser medidos em análises físico-químicas e quantificados (JACOB, 2014).

2.6.2. Flavonoides totais

Os flavonoides estão entre os maiores grupos de metabolitos secundários de plantas. São pigmentos naturais com a importante função de proteger as plantas de contra a ação oxidante. Estes compostos são formados por três anéis aromáticos nos quais as cadeias carbônicas podem sofrer alterações resultando em mais de quatro mil compostos de flavonoides diferentes. Estes são de grande importância na dieta humana uma vez que trazem benefícios à saúde protegendo o organismo de reações adversas (SILVA et al., 2015).

2.6.3. Atividade antioxidante

Capacidade antioxidante se dá à capacidade que algumas substâncias possuem de interromper reações em cadeia de oxidação formadoras de compostos tóxicos derivados de aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos e álcoois. Também podem atuar impedindo a peroxidação lipídica e da lipoxigenase (Silva, 2015).

Nos últimos anos muito tem se falado dos benefícios da ingestão de produtos naturais e com isso o mel tem se destacado como sendo um alimento capaz de trazer vários benefícios à saúde humana. Esta característica muito se dá pela sua composição, onde existem diversos compostos bioativos com capacidades antioxidantes (RIBEIRO, 2013).

2.7. Análise de componentes principais (ACP)

A análise de componentes principais é uma ferramenta utilizada para se extrair de uma maneira mais eficiente as relações de semelhanças e diferenças entre amostras e quais são as variáveis responsáveis pelas observações. O conjunto de dados obtidos possui suas dimensões reduzidas e informações redundantes eliminadas sem que ocorra interferência nos dados. Com isto as informações relevantes são separadas e ampliadas (LEME, 2018).

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo Geral

Analisar para fins de comparação parâmetros físico-químicos assim como compostos bioativos de amostras de mel de *Tetragonisca angustula* e *Apis mellifera*.

3.2. Objetivo Específico

- Analisar o potencial hidrogeniônico das amostras pelo método potenciométrico;
- Aaferir a acidez total das amostras por titulometria;
- Identificar umidade das amostras pelo método refratométrico;
- Averiguar a cor das amostras por espectrofotometria;
- Quantificar fenóis e flavonoides totais por espectrofotometria;
- Determinar a atividade antioxidante por espectrofotometria;
- Efetuar ACP (análise de componentes principais) a fim de verificar as semelhanças e diferenças existentes entre as amostras das duas espécies.

3.3. Justificativa

A *apis mellifera* é a principal espécie de abelha produtora de mel no mundo. Entretanto, existe uma grande variedade de espécies de abelha produtoras de mel no mundo como por exemplo as abelhas sem ferrão conhecidas pela produção de um mel de alta qualidade (ALVES et al., 2005).

A demanda do mel de abelha sem ferrão vem crescendo cada vez mais, e possui uma gama de consumidores dispostos a pagar valores elevadores por este produto. Os altos valores se dão graças aos atributos de alta qualidade que são agregados a esta substâncias, aliados a uma demanda crescente com uma oferta relativamente baixa, uma vez que as abelhas sem ferrão possuem uma capacidade consideravelmente menor quanto a produção de mel (OLIVEIRA, SANTOS; 2011).

Por mais que se trate de um produto de valor elevado e popularmente conhecido por ser um produto de elevada qualidade, o mel de abelha sem ferrão é pouco conhecido quando se trata de composição e parâmetros físico-químicos, sendo na maioria das vezes associado aos parâmetros do mel de *Apis mellifera* (RODRIGUES et al., 2005).

A ausência de parâmetros legislativos para este produto se dá pelo fato de se tratar de uma substância pouco estudada. Porém por se tratar de um produto de alto valor e com diversos atributos qualitativos e até nutracêuticos, é importante que existam mais estudos para que as características e parâmetros de composição desta substância sejam conhecidos e gerem informações que venham a apoiar futuras legislações a respeito da mesma.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os métodos físico-químicos assim como os métodos de análise de compostos bioativos foram realizados conforme descritos por Sereia et al. (2017).

4.1. Equipamentos

Os seguintes equipamentos foram utilizados nas análises do presente trabalho:

- Potenciômetro (modelo MB10 Marte);
- Balança analítica (modelo Marte AD500);
- Agitador magnético;
- Refratômetro;
- Espectrofotômetro Ultravioleta-Visível (UV-Vis) (modelo Red Tide ocean optics USB 650 UV);
- Agitador vortex (modelo Biomixer QL901);
- Banho-maria termostático (modelo MA 156 CIRMarconi).

4.2. Obtenção das amostras

As amostras de *Apis mellifera* (amostras de 1 a 31) foram coletadas entre o mês de agosto de 2016 e fevereiro de 2017 e armazenadas a 5 °C em recipientes de plástico ou vidro esterilizados na Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Campo Mourão até o momento das análises. As amostras de *Melipona sp* (amostras de 32 a 58) foram coletadas entre fevereiro de 2014 e fevereiro de 2015 e armazenadas a 5 °C em potes de plástico esterilizados na Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

4.3. Reagentes

- Hidróxido de sódio P.A. (Dinâmica): Acidez total;
- Ácido clorídrico P.A. (Dinâmica): Acidez total;
- 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.

4.4. Análises físico-químicas

4.4.1. Potencial hidrogeniônico (pH)

Para a determinação do potencial hidrogeniônico utilizou-se um potenciômetro previamente calibrado. Foram pesados em balança analítica 10,0 g de amostra em um béquer e homogeneizado com 75 mL de água destilada e utilizou se então do potenciômetro para efetuar a leitura que foi expressa em unidade de pH.

4.4.2. Acidez total

Para a determinação da acidez total pesou-se em um béquer de 100mL, 10 g de amostra utilizando-se uma balança analítica. Em seguida foi adicionado 75 mL de água destilada e cinco gotas de indicador fenolftaleína no béquer com a amostra. Utilizou um agitador magnético e um potenciômetro para a titulação de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M até que o valor de pH atingisse 8,5. Em seguida o pH da solução foi elevado até o valor de aproximadamente 10 através da adição de NaOH 0,1 M. Titulou-se a solução com ácido clorídrico (HCl) até que o pH retornasse ao valor de 8,3.

O volume de HCl foi corrigido segundo a equação (1).

$$V_{\text{HCl}}^{\text{corrigido}} = V_{\text{HCl}} \cdot f_{\text{HCl}} \quad (1)$$

Onde:

V_{HCl} = Volume de HCl gasto na titulação (mL);

f_{HCl} = Fator de correção do HCl (adimensional);

O volume de NaOH foi corrigido segundo a equação (2).

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

Onde:

V_{NaOH} = Volume de NaOH gasto na titulação (mL);

f_{NaOH} = Fator de correção do NaOH (adimensional);

O volume da acidez livre foi calculado com base na equação (3).

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

O volume de acidez lactônica foi calculado com base na equação (4).

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

O volume de acidez total foi calculado com base na equação (5).

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

4.4.3. Umidade

A umidade foi medida com base em método refratométrico, onde. 3 gotas de amostra foram transferidas ao refratômetro e a leitura foi efetuada após o ângulo limite ser ajustado A leitura foi efetuada diretamente (tabela 1) quando a temperatura da amostra estava exatamente em 20° C.

Os valores da tabela 1 somente se aplicam nos casos em que a amostra se encontra na temperatura de 20° C. Então um ajuste de 0,00023 foi feito para cada grau Celcius acima ou abaixo desta temperatura.

No caso do valor da leitura não ser encontrado na tabela a seguinte equação (6) pode ser utilizada:

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

Onde:

y = Umidade;

x = índice de refração;

Tabela 1 - Determinação de umidade a partir de valor de 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. Cor

A cor foi determinada por método espectrofotométrico, adicionando-se 3 mL de amostra em uma cubeta. A calibração do espectrofotômetro foi realizada com glicerina, em seguida a leitura da amostra foi efetuada no comprimento de de 560 nm. A cor foi determinada com base na escala Pfund (tabela 2).

Tabela 2 - Escala Pfund para determinação de cor

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

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

4.5. Análise de compostos bioativos

4.5.1. Fenóis totais

A determinação de fenóis totais foi realizada a partir da interpolação de absorvância em curva de calibração de ácido gálico com 98% de pureza.

Primeiramente montou-se a curva de calibração de ácido gálico. Foram dissolvidos em um béquer 0,1531 g (pesado em balança analítica) de ácido gálico (GA) em 100 mL de metanol formando uma solução mãe com 1500 mgGAE/L. Desta solução mãe foram realizadas diluições em metanol de 10 mL cada nas seguintes concentrações: 0,30; 180; 330; 600; 900; 1200; e 1500 mgGAE/L. o cálculo das concentrações foram obtidos aplicando-se a equação (6).

$$\text{Concentração da solução de GA (mgGAE/L)} = C_{\text{sol mãe}} \cdot V_p \cdot 100 \quad (6)$$

Onde:

$C_{\text{sol mãe}}$ = Concentração da solução mãe de ácido gálico (mgGAE/L);

V_p = Volume pipetado da solução mãe (mL) = 0,0; 0,1; 0,2; 1,2; 2,2; 4,0; 6,0; 8,0; e 10.

A partir de cada uma destas soluções de concentrações conhecidas foram formadas triplicatas em tubos de ensaio protegidos com papel alumínio onde foram adicionados 30 μ L da solução, 2,37 μ L de água destilada e 150 μ L de reagente Folin-Ciocateu. O branco foi obtido a partir da adição de metanol no lugar da solução, adicionou-se 450 μ L de sódio carbonato 15% dois minutos depois. Os tubos foram fechados e colocados em banho maria com agitação no escuro por 30 minutos a uma temperatura de 37° C. As absorvâncias foram medidas em cubeta de quartzo no

comprimento de onda de 725 nm. A curva de calibração foi então construída com os valores de concentração de ácido gálico na abcissa e os valore de absorbância na ordenada.

Pesou-se em balança analítica 4 g de amostra em um balão volumétrico de 10 mL, seguida de uma diluição com metanol realizada obtendo-se uma solução com uma concentração de 0,4 g/mL. A partir desta solução foi realizada uma triplicata em tubos de ensaio protegidos com papel alumínio, em cada tubo foram adicionados 30 µL de solução 2,37 µL de água destilada e 150 µL de reagente Folin-Cioucateu. Dois minutos depois foram adicionados 450 µL de carbonato de sódio 15%, e os tubos foram então fechados e colocados em banho maria por 30 minutos a 37° C.

Mediu-se as absorbâncias no comprimento de onda 725 nm em espectrofotômetro UV-VIS. E partir da absorbância e com o auxílio da equação (11) foi possível calcular a concentração de fenóis totais em mgGAE/100 g de mel.

4.5.2. Flavonoides totais

A determinação de flavonoides totais foi realizada a partir da interpolação de dados em curva de calibração construída com o padrão quercetina.

Primeiramente montou-se a curva de calibração padrão de quercetina. Foram diluídos em 100 mL de metanol, 0,05263 g de quercetina originando uma solução mãe com concentração de 500 mg/L. a partir desta solução foram então preparadas demais soluções onde foram diluídas em metanol soluções de 10 mL com as respectivas concentrações: 2,5; 5,0; 12,5; 25,0; 37,5; 50,0; 100,0 e 150 mg/L. Os cálculos das concentrações foi realizado a partir da equação (7).

$$\text{Concentração da solução de quecetina (mg/mL)} = C_{\text{sol mãe}} \cdot V_p \cdot 100 \quad (7)$$

Onde:

$C_{\text{sol mãe}}$ = Concentração da solução mãe (mg/mL);

V_p = volume pipetado de solução mãe (mL) = 0,005; 0,010; 0,025; 0,050; 0,075; 0,100; 0,200 e 0,300.

Em seguida foram transferidos 250 μ L destas diluições para tubos de ensaio protegidos com papel alumínio, adicionando-se nos tubos 1000 μ L de água destilada, 75 μ L de nitrato de sódio (NaNO_2) 5% em água, esperou-se 6 minutos e então adicionou-se 500 μ L de NaOH e 600 μ L água destilada, no branco o mesmo procedimento foi realizado porém foram adicionados 250 μ L de metanol no lugar dos 250 μ L da primeira solução. As amostras foram então agitadas em vortex e efetuou-se a leitura de absorbância no comprimento de onda 425nm em espectrofotômetro UV-VIS e uma curva de calibração foi montada com os resultados.

Foram pesados 4 g de amostra em um balão de 10 mL e diluído em metanol obtendo se solução mãe de 0,4 g/mL. Foram então transferidos 250 μ L para tubos protegidos com papel alumínio, 1000 μ L de água destilada, 75 μ L de NaNO_2 5% em água, depois de cinco minutos foram adicionados 75 μ L de AlCl_3 10% em água. 6 minutos depois foram adicionados 500 μ L NaOH 1M; 600 μ L de água destilada, agitado em vortex e realizada a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 425 nm. No branco o mesmo procedimento foi realizado, porém colocou-se metanol no lugar da diluição da amostra.

A partir da leitura e utilizando-se da equação (10) foi possível calcular os flavonoides totais em mgEQ/100 g de mel.

4.5.3. Atividade antioxidante

A determinação de atividade antioxidante foi realizada a partir da capacidade sequestrante do radical livre DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil).

Primeiramente foram pesados 8 g de em um balão volumétrico de 10 mL e diluído em metanol, formando uma solução mãe de concentração 800 mg/mL. Em seguida foram formadas diluições com as concentrações: 80,0; 120,0; 200,0; 400,0; 600,0; 800,0 mg de amostra por mL. As concentrações foram calculadas a partir da equação (8).

$$\text{Concentração da solução} = C_{\text{mãe}} \cdot V_p \quad (8)$$

Onde:

$C_{\text{mãe}}$ = Concentração da solução mãe (mg/mL);

V_p = Volume pipetado da solução (mL) = 0,10; 0,15; 0,25; 0,50; 0,75; 1,0.

Em seguida foram transferidos em triplicata para tubos de ensaio protegidos com papel alumínio, em seguida foram adicionados 3,8 mL de solução de DPPH 0,06 mM. Cada diluição possuía seu próprio branco onde no lugar amostra diluída foi adicionado metanol. O controle negativo foi preparado com 3,8 mL de DPPH 0,06 mM, em seguida todos tubos foram agitados em vortex e armazenados em ausência de luz por 30 minutos. Em seguida os conteúdos dos tubos foram lidos em espectrofotômetro utilizando-se de cubeta de quartzo, em comprimento de onda de 515 nm, o resultado foi expresso em percentual de atividade antioxidante (%AA) usando a equação (9).

$$AA (\%) = 100 - [(ABS_{\text{amostra}} - ABS_{\text{branco}})/ABS_{\text{controle}}] \cdot 100 \quad (9)$$

Onde:

ABS_{amostra} = Absorbância da amostra;

ABS_{branco} = Absorbância do branco;

ABS_{controle} = absorvância do controle negativo;

Em seguida montou-se um gráfico onde os valores do eixo (x) eram as concentrações de mel testadas e o eixo (y) os valores de AA (%) calculados. Uma reta de regressão foi então montada com estes pontos encontrando-se uma equação da reta,

usando a equação da reta calculou-se o valor de EC_{50} ("x" da equação), para um valor de "y" igual a 50 que representa a mínima concentração necessária para que se reduza 50% da concentração inicial de DPPH.

4.6. Análise estatística de dados

A análise estatística dos dados foi baseada na Análise de Componentes Principais (ACP) realizada no software *Matlab*® (versão 2018a) fornecido pela Dalhousie University de Halifax, a fim de se avaliar as semelhanças e diferenças entre as amostras com base nas análises escolhidas. O gráfico de scores escolhido para apresentação dos resultados foi o de PC 1 (46,04% de variância) x PC 2 (28,58% de variância).

As amostras foram avaliadas com base nas seguintes análises: Potencial hidrogeniônico (1), acidez total (2), umidade (3), cor (4), flavonoides totais (5), fenóis totais (6), Atividade antioxidante (7).

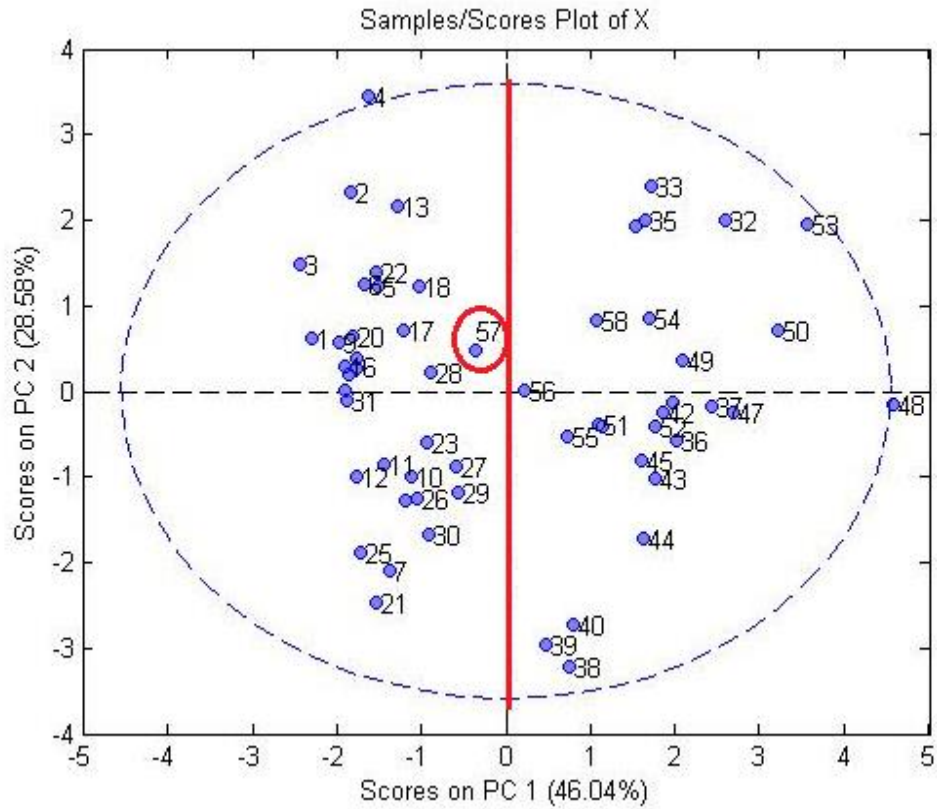
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 3 estão expressos graficamente os resultados obtidos na Análise de Componentes Principais em relação ao agrupamento de amostras onde foi possível notar que amostras de *Apis mellifera* agruparam-se separadamente das amostras de *Melipona sp*: enquanto as amostras de *Apis* aparecem na região de valores negativos para PC 1, as amostras de *Melipona sp* se agruparam no quadrante com valores positivos para PC 1, com exceção da amostra 57 que foi erroneamente classificada, aparecendo junto com as amostras de *Apis m*.

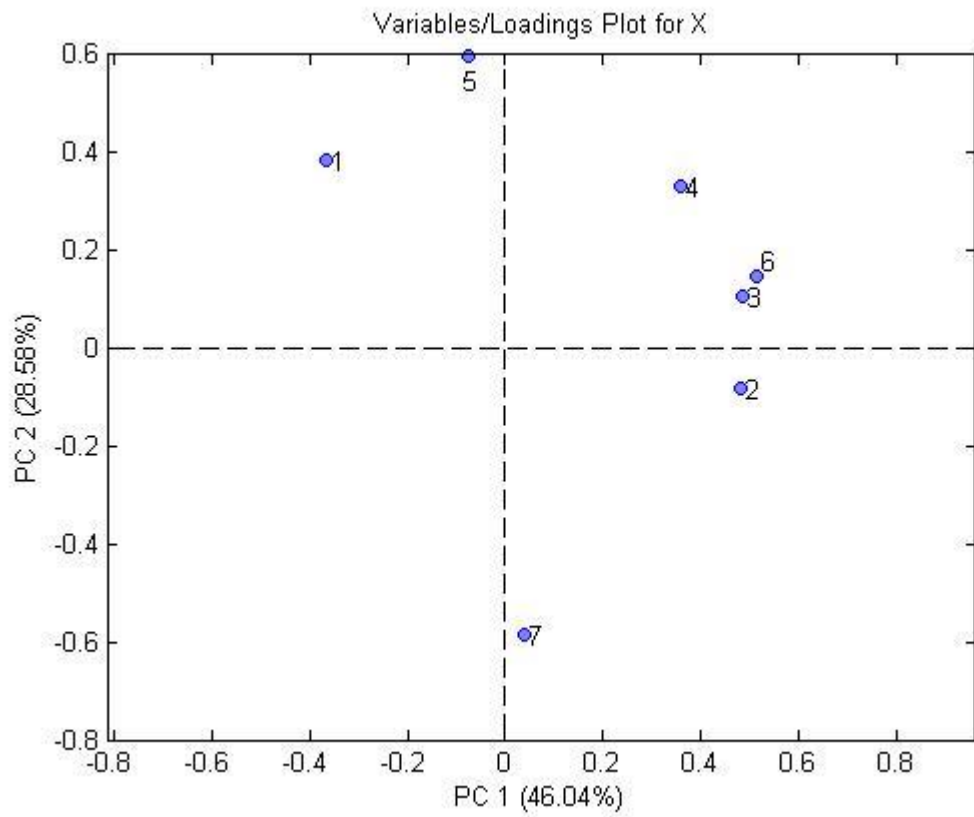
A figura 4 apresenta as variáveis responsáveis pela diferenciação das amostras. Neste caso, para facilitar a interpretação, se um grupo de amostras (Figura 3) encontra-se na região positiva de PC 1, mesma região em que se encontra uma variável hipotética “x” (Figura 4), significa então que este grupo de amostras possui uma influência maior do parâmetro “x”.

Na tabela 3 encontram-se os resultados das análises (pH, acidez total, umidade, cor, fenóis totais, Flavonoides totais e atividade antioxidante) realizadas no presente trabalho, assim como os parâmetros legislativos vigentes na Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000, para fins comparativos.

Figura 3 – Gráfico de Scores (PC 1 x PC 2) resultante da Análise de Componentes Principais



Pontos de 1 a 31: amostras de *Apis mellifera*; Pontos de 32 a 58 amostras de *Melipona* sp.

Figura 4 - Gráfico de Loadings resultante da análise de componentes

Ponto 1: Potencial hidrogeniônico; Ponto 2: Acidez total; Ponto 3: Umidade; Ponto 4: Cor; Ponto 5: Flavonoides totais; Ponto 6: Fenóis totais; Ponto 7: Atividade antioxidante.

Tabela 3 - resultados das análises Físico-Químicas

Amostras	pH	Acidez	Umidade	Cor	Flavonoides	Fenois totais	Atividade
		meq.kg ⁻¹	%	P _{fund}	mgQE/100g mel	mgEAG/100g mel	EC50 mg mL ⁻¹
1	4.68333	17.28400	18.06667	0.04000	360.83333	165.33333	17.33254
2	5.17667	19.66800	20.46667	0.38200	479.28571	283.66667	11.41986
3	4.93000	17.58200	17.80000	0.12600	497.73810	220.33333	20.95301
4	4.85333	28.31000	17.93333	0.89700	716.19048	118.66667	10.06385
5	4.50333	23.24400	17.93333	0.60000	445.95238	133.66667	22.89043
6	4.61333	22.94600	18.33333	0.35000	476.90476	225.33333	23.87585
7	4.03000	22.64800	17.00000	0.20500	204.88095	162.00000	68.44240
8	4.19667	22.35000	16.73333	0.26500	390.00000	132.00000	23.23121
9	4.43000	20.86000	17.66667	0.07300	442.97619	207.00000	24.51737
10	3.89333	22.35000	19.00000	0.03800	309.04762	240.33333	40.01961
11	4.22667	23.24400	18.46667	0.18300	266.78571	163.66667	43.12907
12	4.24333	21.75400	18.20000	0.00900	231.66667	140.33333	35.67801
13	4.44667	22.64800	17.93333	0.48800	606.07143	342.00000	13.52862
14	4.33000	21.15800	16.73333	0.28800	350.11905	177.00000	19.31659
15	4.44333	22.35000	19.00000	0.00600	429.88095	183.66667	33.98000
16	4.48000	21.45600	19.13333	0.01300	431.66667	178.66667	32.60484
17	4.33333	22.05200	18.60000	0.52600	455.47619	197.00000	35.53720
18	4.49667	23.84000	18.86667	0.79400	498.92857	187.00000	39.91533
19	3.98667	25.03200	18.20000	0.25800	215.59524	122.00000	42.80442
20	4.67000	21.15800	18.20000	0.32500	375.11905	195.33333	29.34041
21	4.13667	19.66800	17.00000	0.24500	194.16667	118.66667	84.51625
22	4.60667	26.52200	17.66667	0.42700	449.52381	258.66667	16.90616
23	3.98000	30.09800	17.53333	0.40600	304.88095	200.33333	39.01852
24	4.47333	24.43600	18.06667	0.03200	280.47619	178.66667	17.80442

Apis mellifera

25	4.35000	22.94600	16.86667	0.19500	163.80952	143.66667	64.67568	
26	4.00667	24.43600	19.40000	0.29700	190.00000	105.33333	41.28752	
27	4.09667	21.15800	17.80000	0.92500	200.11905	145.33333	55.57096	
28	3.89000	31.29000	18.86667	0.12200	406.66667	285.33333	15.54204	
29	3.81333	35.16400	19.00000	0.37000	319.76190	163.66667	54.96059	
30	3.76000	28.31000	19.13333	0.18900	225.11905	107.00000	47.88601	
31	4.47000	30.69400	19.00000	0.01300	223.92857	77.00000	10.12866	
32	3.89000	84.15867	27.40000	0.89633	574.77723	551.66667	18.02377	
33	4.39333	45.39267	26.80000	0.96267	555.95569	681.07843	27.20924	
34	4.34000	45.06133	27.00000	1.00733	483.75016	503.62745	28.78678	
35	4.57667	27.99767	27.46667	1.23233	301.86491	623.72549	19.06536	
36	4.13667	72.39633	24.86667	0.74267	170.11414	601.66667	46.47927	
37	4.09333	74.55000	25.73333	0.89300	181.40706	640.88235	40.09757	
38	3.78667	67.26067	21.93333	0.23700	77.88859	297.74510	83.87312	
39	3.89333	55.33267	21.66667	0.28433	226.57875	322.74510	104.74360	
40	3.80000	72.89333	22.20000	0.21367	81.65290	286.96078	66.53445	
<i>Tetragonisca</i> <i>angustula</i>	41	3.83333	77.20067	25.00000	0.58533	418.55845	538.43137	52.29565
	42	3.82667	71.89933	23.26667	0.55067	294.33629	651.17647	35.73653
	43	3.73000	81.17667	23.00000	0.47267	324.45076	530.58824	57.96749
	44	3.81667	76.86933	22.86667	0.53433	202.11075	474.70588	66.92236
	45	3.82667	81.17667	22.86667	0.49700	328.21506	490.88235	54.08504
	46	3.63333	36.30567	24.06667	0.41400	271.01190	547.25490	28.55714
	47	3.50000	73.46900	24.86667	0.54800	294.22619	783.52941	29.33641
	48	3.40000	147.62500	24.60000	0.48300	366.25000	1099.70588	29.36681
	49	3.70000	45.19333	24.73333	0.67500	284.10714	774.21569	20.71183
	50	3.70000	82.11067	26.86667	0.92800	340.05952	732.05882	24.03184
	51	3.80000	33.02100	24.60000	0.50500	261.48810	525.19608	35.88172
	52	3.50000	49.43833	25.53333	0.39900	228.75000	579.60784	18.04717
	53	3.76667	91.15767	23.26667	1.09500	493.63095	1055.09804	15.73824

54	4.43333	71.52333	24.46667	0.58000	291.84524	770.29412	23.53895
55	4.26667	28.80133	24.33333	0.50400	233.51190	598.72549	54.37121
56	4.20000	25.24600	25.53333	0.23700	220.41667	444.31373	20.18033
57	4.70000	17.66567	25.13333	0.27100	262.67857	469.31373	30.02812
58	4.13333	23.73167	24.33333	0.95600	260.89286	533.03922	22.61482

5.1. Características físico-químicas

5.1.1. Potencial hidrogeniônico (pH) e acidez

Como pode ser observado nos gráficos das figuras 3 e 4, as amostras de *Apis mellifera* são diferentes das amostras de *Tetragonisca angustula* (agrupadas em valores de PC 1 positivo com exceção da amostra 57) com relação ao pH. O grupo de *Apis mellifera* foi mais influenciado pela variável pH que o grupo de *Tetragonisca angustula*. Os valores de pH para as amostras de *Apis mellifera* variaram entre 3,76 e 5,18. Enquanto nas amostras de *Tetragonisca angustula* os valores variaram entre 3,4 e 4,7.

Já para a variável acidez total as amostras de *Tetragonisca angustula* sofreram maior influência com exceção da amostra 57. Os valores de acidez total para amostras de *Apis mellifera* variaram entre 17,28 e 35,16 meq/Kg enquanto para as amostras de *Tetragonisca angustula* variaram entre 17,67 e 147,62 meq/Kg. Com base na legislação nacional (Regulamento Técnico de identidade e Qualidade) o valor máximo de acidez do mel deve ser de 50 meq/Kg. Com isto pode-se observar que o mel de *Apis mellifera* encontram-se dentro da variação permitida pela legislação vigente. Porém, existe uma quantidade considerável de amostras de *Tetragonisca angustula* com valores de acidez fora da legalidade.

Em um estudo conduzido por Chiapetti e Braghini em 2013 foram realizada a comparação físico-química de mel de *Apis mellifera* e Jataí, e foram notadas diferenças significativas nos valores de pH entre os dois tipos de mel. Também foi observada uma relação direta entre pH e acidez onde maiores teores de acidez refletiram em menores valores de pH. Nas amostras de *Apis mellifera* deste estudo foram encontrados valores de pH entre 3,90 e 4,37, e de acidez entre 36,67 e 38,11 meq/kg. Já para as amostras de Jataí os valores de pH variaram entre 4,01 e 4,38 e os valores de acidez entre 25,66 e 29,31 meq/kg.

Em outro estudo realizado por Lira et al (2014) foram encontrados valores entre 13,74 e 45,67 meq/kg para amostras de mel de *Apis mellifera*, os quais estão dentro do parâmetro legislativo, enquanto que para as amostras de mel de meliponíneos (*Scaptotrigona sp* e *Tetragonisca angustula*) os valores médios de acidez foram de 81,01 e 71,68 meq/kg respectivamente, valores estes além do limite da legislação.

5.1.2. Umidade

Ao observar as figuras 3 e 4, o grupo de amostras de *Tetragonisca angustula* foram as mais influenciadas pela variável umidade com exceção da amostra 57. Os valores de umidade das amostras de *Apis mellifera* variaram entre 16,73% e 20,47% enquanto os valores das amostras de Jataí variaram entre 21,67% e 27,47%. O parâmetro legislativo para umidade é de no máximo 20%, nas amostras de *Apis mellifera* apenas um valor se mostrou um pouco acima deste limite enquanto para as amostras de *Tetragonisca angustula* nenhum valor encontrou-se dentro do limite da legislação indicando que os valores de umidade desta espécie não são abrangidos pela legislação nacional.

No estudo de Chiapetti e Braghini também foram encontradas diferenças significativas entre as amostras de *Apis mellifera* e Jataí, sendo que os valores de umidade encontrados para amostra de *Apis* variaram entre 16,05% e 18,40%, estando assim dentro dos parâmetros da legislação, enquanto que para as amostras de Jataí os valores variaram entre 25% e 25,50%, valores também acima do limite da legislação sugerindo a não abrangência da legislação a este parâmetro das amostras da espécie Jataí.

No estudo de Lira (2014) os resultados de umidade da *Apis mellifera* também estavam de acordo com a legislação variando entre 15,2% e 20,0%. Já para amostras de *Tetragonisca angustula* os valores encontrados foram de 23% a 29%, em desacordo com a legislação nacional.

5.1.3. Cor

As amostras de *Tetragonisca angustula* foram as mais influenciadas pela variável cor, como pode ser observado nas figuras 3 e 4. Os valores de cor na escala Pfund para as amostras de *Apis mellifera* variaram entre 0,006 e 0,925 ou seja, do branco água até o Âmbar enquanto os valores de *Tetragonisca angustula* variaram de 0,21 até 1,23, representando uma variação de cor do âmbar claro ao Âmbar escuro. Segundo a legislação o parâmetro de cor aceitável é variado indo do branco água ao âmbar escuro, assim todas amostras encontram-se de acordo com o parâmetro.

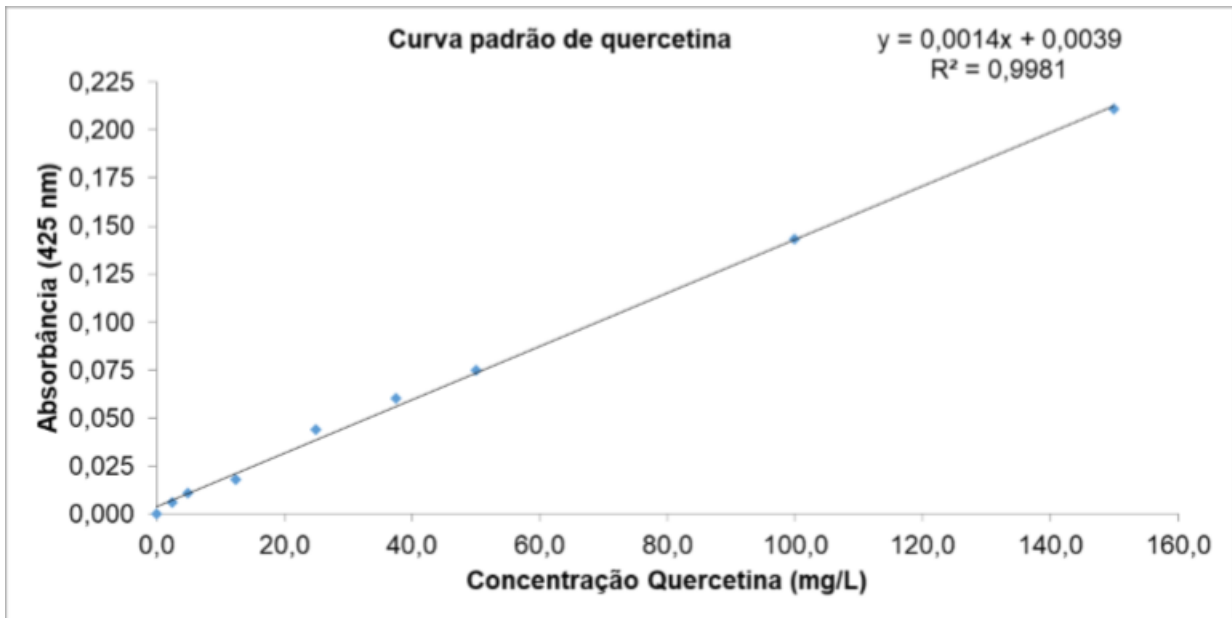
No estudo de Lira et al (2014) as cores encontradas para as amostras de *Apis mellifera* variaram do branco água ao âmbar escuro enquanto as amostras de meliponíneos a cor encontrada foi apenas o âmbar escuro.

5.2. Compostos bioativos

5.2.1. Flavonoides totais

A curva de calibração da quercetina, utilizada para a interpolação de dados na análise de flavonoides totais pode ser observada na figura 5.

Figura 5 Curva padrão de quercetina



A partir desta curva obteve-se a equação (10) utilizada para calcular o teor de flavonoides totais em mgEQ/100g de mel.

$$y = 0,0014x + 0,0039 \quad (10)$$

Onde:

y = Absorbância em 425 nm;

x = teor de flavonoides totais (mgEQ/L);

O grupo das amostras de *Apis mellifera* foi o mais influenciado pela variável flavonoides totais. Os valores de flavonoides totais para amostras de *Apis mellifera*

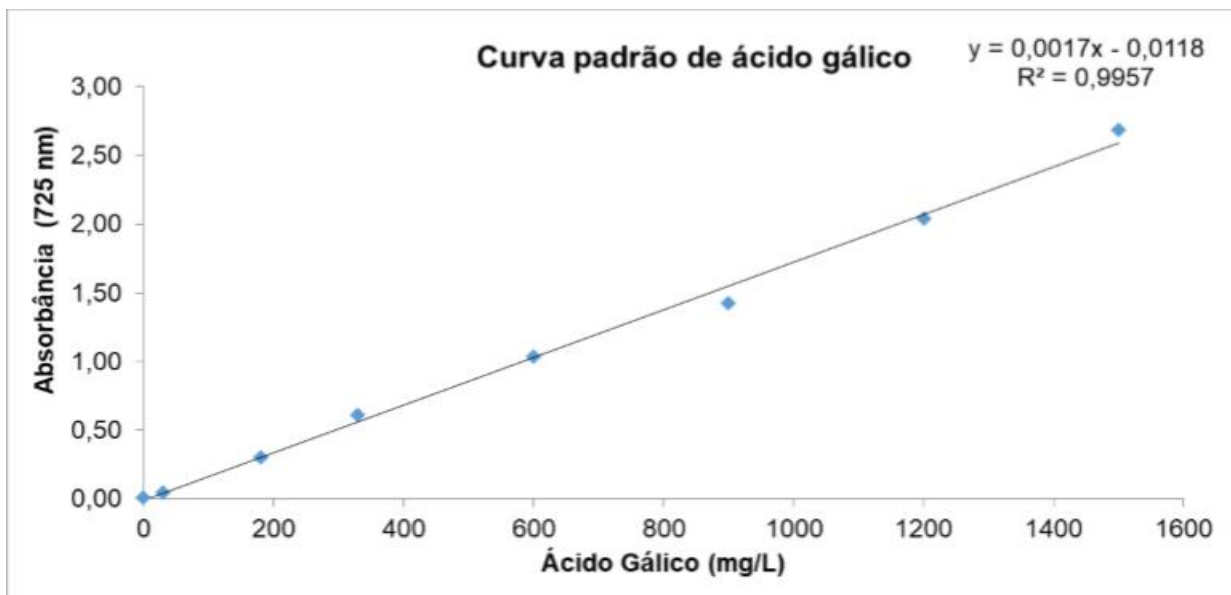
variaram de 163,80 mgEQ/100g de mel a 716,19 mgEQ/100g de mel enquanto as amostras de Jataí variaram entre 77,89 mgEQ/100g de mel e 574,78 mgEQ/100g de mel.

No estudo de Lira et al foram encontrados valores inferiores de flavonoides sendo entre 1,78 a 6,38 mgEQ/100g de mel para a espécie *Apis mellifera* e 1,78 a 6,38 mgEQ/100g de mel para as amostras de Jataí. A alta variação deste componente pode estar relacionada ao fato da variação de fatores como clima e vegetação influenciarem significativamente na composição do mel.

5.2.2. Fenóis totais

A curva de calibração padrão de ácido gálico utilizada na interpolação de dados pode ser observada na figura 6.

Figura 6 Curva padrão de ácido gálico



A partir da curva obteve-se a equação (11) utilizada para cálculo do teor de flavonoides totais em mgGAE/100g de mel.

$$y = 0,0017x - 0,0118 \quad (11)$$

Onde:

y = Absorbância em 725 nm;

x = Teor de fenóis totais (mgGAE/L);

O grupo das amostras de Jataí (com exceção da amostra 57) foi o que mais sofreu influência da variável fenóis totais como pode ser observado nas figuras 3 e 4. Os valores de fenóis totais variaram entre 77 e 342 mgGAE/100g de mel para as amostras de *apis mellifera* enquanto as amostras de Jataí variaram entre 286,96 e 1099,70 mgGAE/100g.

No estudo realizado por Lira et al (2014) os valores encontrados foram de 43,34 a 75,47 mgGAE/100g de mel para *Apis mellifera* enquanto para Jataí foram de 61 a 105 mgGAE/100g de mel.

Pode-se notar que o mel de Jataí apresentou valores maiores de compostos fenólicos, substâncias diretamente ligadas a capacidade antioxidante.

5.2.3. Atividade Antioxidante

A variável atividade antioxidante influenciou em maior escala as amostras de Jataí (com exceção da amostra 57) como pode ser observado nas figuras 3 e 4.

Os valores de EC₅₀ variaram entre 10,03 e 84,51 mg/mL nas amostras de *Apis Mellifera* enquanto as amostras de Jataí variaram entre 15,73 e 104,74 mg/mL.

No estudo de Lira et al os valores de 15,71 a 57,01 mg/mL para amostras de *Apis mellifera* enquanto as amostras de *Scaptotrigona sp* e Jataí os valores encontrados foram de 20,49 a 36,16 mg/mL e 24,76 a 24,94 mg/mL respectivamente.

O EC₅₀ representa a mínima concentração necessária para que se reduza 50% do DPPH inicial, ou seja, quanto menor este valor maior a atividade antioxidante. Com isto

por mais que tenha maior quantidade de compostos fenólicos totais o mel de Jataí se mostrou ligeiramente menos antioxidante.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que os resultados do presente estudo se mostram satisfatórios uma vez que as amostras diferenciam-se pela análise de componentes principais, em função das variáveis estudadas, de maneira que apenas uma amostra (amostra 57) ficou fora do grupo de sua espécie. Assim é possível afirmar que existem diferenças físico-químicas entre o mel de *Apis mellifera* africanizada e *Tetragonisca angustula*.

Outro fato interessante é que foi possível notar a não abrangência da legislação nacional (regulamento técnico de identidade e qualidade do mel) quando se trata do mel da ASF da espécie *Tetragonisca angustula*, demonstrando-se assim que existe a necessidade da criação novas legislações que abordem este produto.

7. REFERENCIAS

AJIBOLA, Abdulwahid; CHAMUNORWA, Joseph P.; ERLWANGER, Kennedy H. Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. **Nutrition & metabolism**, v. 9, n. 1, p. 61, 2012.

ALVES, Eloi Machado. Identificação da flora e caracterização do mel orgânico de abelhas africanizadas das ilhas floresta e laranjeira, do alto rio Paraná. **Maringá (PR): Universidade Estadual de Maringá**, 2008.

ALVES, Rogério Marcos de Oliveira et al. Physico-chemical characteristics of honey samples of stingless bee *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Food Science and Technology**, v. 25, n. 4, p. 644-650, 2005.

ALVES-DOS-SANTOS, Isabel. A vida de uma abelha solitária. **Ciência Hoje, Rio de Janeiro**, v. 179, p. 60-62, 2002.

ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.

ÁVILA, Suelen. **Determinação de parâmetros de qualidade de mel de abelhas sem ferrão utilizando ferramentas quimiométricas**. 2019. 137 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

BACAXIXI, P. et al. A importância da apicultura no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 10, n. 20, 2011.

CHIAPETTI, Elisa; BRAGHINI, Francieli. **Comparação das características físico-químicas do mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) e abelhas jataí (*Tetragonisca angustula*)**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

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

DE PAIVA SOARES, Karoline Mikaelle; AROUCHA, Edna Maria Mendes. Características e propriedades inerentes ao mel. **PUBVET**, v. 4, p. Art. 766-772, 2010.

DOS SANTOS, Angela Mingozi Martins; MENDES, Elisa Cimitan. Abelha africanizada ("Apis mellífera" L.) em áreas urbanas no Brasil: necessidade de monitoramento de risco de acidentes. **Revista Sustinere**, v. 4, n. 1, p. 117-143, 2016.

EMBRAPA MEIO NORTE (Terezina-PI) Apicultura: Sistema de Produção, 3. ISSN 1678-8818. Versão Eletrônica, Jun 2003.

EVANGELISTA-RODRIGUES, Adriana et al. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em regiões distintas no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1166-1171, 2005.

GALLO, Domingo et al. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988.

GHELDOLF, Nele; WANG, Xiao-Hong; ENGESETH, Nicki J. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5870-5877, 2002.

GOIS, Glayciane Costa et al. Composição do mel de *Apis mellifera*: Requisitos de qualidade. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, n. 2, p. 137-147, 2013.

LIRA, Aline Figueira et al. Estudo comparativo do mel de *Apis mellifera* com méis de meliponíneos de diferentes regiões. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 3, p. 169-178, 2014.

LOPES, Marcio; FERREIRA, João Batista; SANTOS, G. dos. Abelhas sem-ferrão: a biodiversidade invisível. **Agriculturas**, v. 2, n. 4, p. 7-9, 2005.

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

MINUSSI, Luiz Carlos; ALVES-DOS-SANTOS, Isabel. Abelhas nativas versus *Apis mellifera* Linnaeus, espécie exótica (Hymenoptera, Apidae). **Bioscience Journal**, v. 23, 2007.

MONTENEGRO, Hercules Rocha. **Comparação das características físico-químicas e antioxidantes do mel de *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) coletado nos estados do Paraná e Rondônia.** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

NOGUEIRA-NETO, P. et al. Behavior problems related to the pillages made by some parasitic stingless bees (Meliponinae, Apidae). **Behavior problems related to the pillages made by some parasitic stingless bees (Meliponinae, Apidae).**, p. 416-434, 1970.

OLIVEIRA, Emanuel Neto Alves de; SANTOS, Dyego da Costa. Análise físico-química de méis de abelhas africanizada e nativa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 70, n. 2, p. 132-138, 2011.

OLIVEIRA, Marcio Luiz de; CUNHA, Jorge Alcântra. Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica? **Acta Amazonica**, Manaus, v. 35, n. 3, p.389-390, jan. 2005.

PARK, Kil Jin; ANTONIO, Graziella Colato. Análises de materiais biológicos. **Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola**, 2006.

PEREIRA, F. de M.; SOUZA, B. de A.; LOPES, MT do R. Criação de abelhas-sem-ferrão. **Embrapa Meio-Norte-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2017.

RIBEIRO, Liliana Patricia Mendes. Avaliação da qualidade do mel: atividade antioxidante, análise polínica e percepção do consumidor. 2013.

RODRIGUES DA SILVA, Laís et al. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicológica argentina**, v. 23, n. 1, 2015.

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.

SILVA, Maira Oliveira et al. Atividade antioxidante e composição de oligossacarídeos em subproduto obtido do processamento industrial da goiaba (*Psidium guajava*). 2015.

SIME, Dubero et al. Total phenols and antioxidant activities of natural honeys and propolis collected from different geographical regions of Ethiopia. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, v. 29, n. 2, p. 163-172, 2015.

SOUSA, Janaína Maria Batista et al. Aspectos físico-químicos e perfil sensorial de méis de abelhas sem ferrão da região do Seridó, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1765-1774, 2013.

SOUZA, Lindomar Maria et al. Comparação de metodologias de análise de pH e acidez titulável em polpa de melão. **JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO-JEPEX**, v. 10, 2010.

STRAMM, Klaus Martin. **Composição e qualidade de méis de abelha Jandaira (Melipona subnitida), efeitos estocagem e comparação com méis de Apis mellifera**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ZENEBON, Odair; PASCUET, Neus Sadocco. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. In: **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 2005.