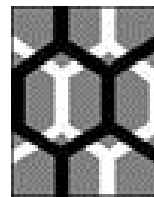




UFAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA



IQB

ALBERTO MAGNO MATOS DE ALMEIDA

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, MELISSOPALINOLÓGICAS,
MICROBIOLÓGICAS DE MÉIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE MÉIS E
PRÓPOLIS DE *Apis mellifera* L. 1758, DA REGIÃO
NORDESTE DO ESTADO DA BAHIA**

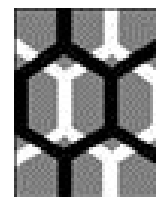
Maceió

2013



UFAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA



IQB

ALBERTO MAGNO MATOS DE ALMEIDA

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, MELISSOPALINOLÓGICAS,
MICROBIOLÓGICAS DE MÉIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE MÉIS E
PRÓPOLIS DE *Apis mellifera* L. 1758, DA REGIÃO
NORDESTE DO ESTADO DA BAHIA**

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof.^a Dra. Marília Oliveira
Fonseca Goulart

Co-orientadora: Profa. Dra. Iara Barros
Valentim

Maceió

2013

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos

A447c Almeida, Alberto Magno Matos de.
Características físico-químicas, melissopalínológicas, microbiológicas de méis e capacidade antioxidante de méis e de própolis de *Apis mellifera* L. 1785, da região nordeste da Bahia / Alberto Magno Matos de Almeida. – 2013. 134 f. : il.

Orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart.

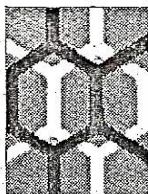
Co-orientadora: Iara Barros Valentim.

Tese (doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2013.

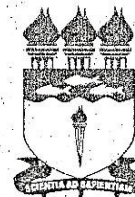
Bibliografia: f. 118-134.

1. Mel – Controle de qualidade. 2. Tipos polínicos. 3. Própolis – Controle de qualidade. 4. Mel – Propriedades. 5. Apicultura. I. Título.

CDU: 543.645.9:638.162



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA

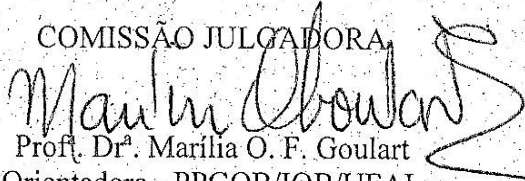


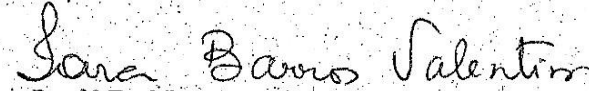
BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

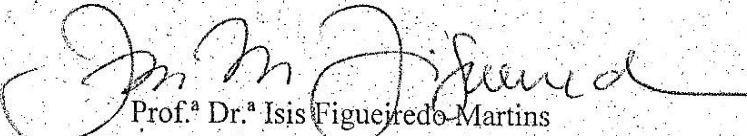
FOLHA DE APROVAÇÃO

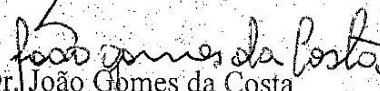
Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese do Doutorando **Alberto Magno Matos de Almeida**, intitulada: "**Características Físico-Químicas, Melissopalínológicas, Microbiológicas de Méis e Capacidade Antioxidante de Méis e de Própolis de *Apis mellifera* L. 1758, do Nordeste da Bahia**", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 21 de março de 2013, às 14:00, na Sala de Aulas do PPGQB/UFAL.

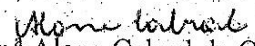
COMISSÃO JULGADORA

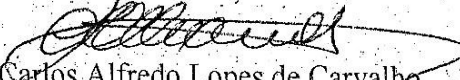

Prof.^a Dr.^a Marília O. F. Goulart
Orientadora - PPGQB/IQB/UFAL


Prof.^a Dr.^a Iara Barros Valentim
Coorientadora - Campus Penedo/UFAL


Prof.^a Dr.^a Isis Figueiredo-Martins
PPGQB/IQB/UFAL


Prof. Dr. João Gomes da Costa
PPGQB/EMBRAPA


Prof.^a Dr.^a Alane Cabral de Oliveira
FANUT/UFAL


Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho
UFRB

Dedico este trabalho à minha Família. A minha esposa Maria do Carmo, e aos nossos filhos Alan e Caio, pelo apoio a culminância desse empreendimento, tão valoroso a vida profissional e pessoal.

AGRADECIMENTOS

A professora Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart, orientadora desta tese, por ter me acompanhado ao longo deste trabalho.

A professora Dra. Lara Barros Valentim pela orientação e atenção dispensada durante o curso.

Ao Laboratório de Eletroquímica por permitir e promover as condições necessárias para a realização deste estudo.

A todos os colegas do Laboratório de Eletroquímica, em especial, aos colegas, Fabrícia da Rocha, Pierre, Cícero Alexandre, André, Cícero Oliveira, Paulo, Allani, Alane, Juliana, Augusto, Fred, Camila, Erivaldo, Francisco de Assis, Cleylton, Yen Galdino, Adilson, Mônica e Jadriane pela amizade, incentivo e pelas discussões durante o desenvolvimento científico do trabalho.

À Farmacêutica Alvanice Silva e estagiários (as), Marília, Camila, Diogo, Elisângela e Rodrigo do Laboratório de Abelhas (LABE) da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola S.A. (EBDA) pela realização das análises físico-químicas.

À Dra. e pesquisadora Marina Castro da EBDA, por auxiliar na realização das análises físico-químicas.

Aos meus pais que me educaram e apoiaram a minha formação profissional.

À minha família, colegas e amigos que contribuíram para que esse curso pudesse ser realizado.

Às bibliotecárias da UFAL, pela ajuda na elaboração e correções das referências bibliográficas.

Ao Instituto de Química e à Pós-Graduação, por ter nos acolhido e oferecido às condições necessárias para a realização deste curso.

À EBDA e ao CETEP (Centro Territorial de Educação Profissional do Semi-árido Nordeste II pela liberação para a realização deste curso.

Aos colegas professores (as) do CETEP, em especial, Heloísia, Odete, Joy, Helda, Augusto e Ricardo Miranda por acreditar sempre na educação.

À Ricardo Miranda, Luzia Miranda e Monteiro pelo apoio na coleta das amostras de mel.

Ao pessoal do Departamento de Recursos Humanos da EBDA, representada por Jane Margareth.

Ao professor e Dr. Carlos Alfredo e as graduandas Larissa Silva Souza, Lorena Silva Souza e Marivalda Figueredo Santa Barbara do Núcleo de Estudos dos Insetos (Insecta) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), que contribuíram para a realização das análises melissopalínológicas e microbiológicas.

Ao nosso Conselheiro acadêmico, Antônio Mendes da Silva e os colegas José Augusto e Júlio Cesar, pelo incentivo e orientação e, também, por acreditar em nosso trabalho.

À Cooperativa de Apicultores de Ribeira do Pombal, Bahia, representada por Monteiro, Paulo e Drauzio.

À Vandira Pereira da Mata, coordenadora de Apicultura da EBDA, pelo apoio para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos os professores, em especial aos que ministraram as disciplinas do curso, Marília, Ruth Rufino, Eusébio, Fabiane Caxico e Josealdo Tonholo.

Agradeço das instituições CAPES, CNPQ, FAPEAL e EMBRAPA por contribuírem nas pesquisas.

A todos aqueles que contribuíram direta e indiretamente, para que esse trabalho fosse realizado, despertando interesse em conhecer mais a biotecnologia tão importante para a vida.

RESUMO

No presente trabalho, foram avaliadas as características físico-químicas, melissopalínológicas, microbiológicas de méis e a capacidade antioxidante de méis e de própolis de *Apis mellifera* L. 1758, da Região Nordeste do Estado da Bahia. As amostras de mel foram provenientes dos municípios de Ribeira do Pombal, Ribeira do Amparo, Tucano, Heliópolis, Banzaê, Euclides da Cunha, Entre Rios, Nova Soure. As amostras de própolis foram coletadas em colmeias tipo Langstroth nos municípios de Tucano, Ribeira do Pombal e Jandaíra, Bahia. Foram avaliados os parâmetros de qualidade do mel - umidade, acidez livre, pH, hidroximetilfurfural (HMF), açúcares redutores, sacarose aparente, sólidos solúveis, cinzas, cor e dados microbiológicos, com contagem padrão de bolores e leveduras (UFC.g^{-1}), aeróbios mesófilos e psicrotróficos (UFC.g^{-1}), coliformes totais e termotolerantes (NMP.g^{-1}). Por meio da melissopalínologia foram identificados os tipos polínicos presentes nas amostras de méis. Foram avaliados o teor de fenóis totais e capacidade antioxidante para mel e própolis e o teor de flavonóides totais para própolis. Os resultados físico-químicos mostraram que o mel da região encontra-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação. Os resultados microbiológicos para bolores e leveduras foram valores médios de $1,76 \times 10^3 \text{ UFC g}^{-1}$, para aeróbios mesófilos, os valores médios foram de $2,5 \times 10^2 \text{ UFC g}^{-1}$. Todas as amostras foram negativas para coliformes totais e termotolerantes ($< 3,0 \text{ NMP g}^{-1}$). Foram identificadas 21 famílias e 67 tipos polínicos. Quanto à origem floral, 28 foram classificadas como poliflorais e 2 monoflorais. Todas as amostras de mel apresentaram capacidade antioxidante e a maioria apresentou cor escura com maior conteúdo total de fenóis. Foram encontradas correlações positivas entre teor de fenóis totais, capacidade antioxidante e cor. Os resultados para própolis revelaram que os extratos de própolis apresentaram alta capacidade antioxidante. A variação quantitativa de flavonóides, fenóis e capacidade antioxidante na própolis é fortemente influenciada pela flora visitada pelas abelhas, região geográfica e fatores edafoclimáticos. O mel e a própolis produzidos na Região Nordeste do Estado da Bahia contribuem para o desenvolvimento da economia regional e sua qualidade é reforçada pelos resultados do presente trabalho.

Palavras-Chave: Apicultura. Controle de qualidade. Tipos polínicos.

ABSTRACT

In the present study, the physico-chemical, melissopalynological and microbiological characteristics of honey samples together with the analysis of the antioxidant capacity of honey and propolis samples of *Apis mellifera* L. 1758 from the state of Bahia, were obtained. Honey samples were from the municipalities of Ribeira do Pombal, Ribeira do Amparo, Tucano, Heliópolis, Banzaê, Euclides da Cunha, Entre Rios, Nova Soure. Propolis samples were collected in Langstroth hives type in the municipalities of Tucano, Ribeira do Pombal and Jandaíra, Bahia. We evaluated the parameters of honey quality - moisture, free acidity, pH, hydroxymethylfurfural (HMF) content, reducing sugars, apparent sucrose, soluble solids, ash, color and microbiological count standard molds and yeast (CFU g⁻¹), aerobic mesophilic and psychrotrophic (CFU g⁻¹), total and fecal coliforms (NMP g⁻¹). Through melissopalynology, pollen types present in honey samples were identified. Parameters as total phenol and antioxidant capacity for honey and propolis and total flavonoid content in propolis were also evaluated. The results showed that the physicochemical characteristics of the honey from the middle region are within the limits established by law. The microbiological results for molds and yeasts showed average values of 1.76 x10³ CFU g⁻¹ and aerobic mesophilic ones presented averages of 2.5 x10² CFU g⁻¹. All samples were negative for total and fecal coliforms (<3.0 NMP g⁻¹). We identified 21 families and 67 pollen types. As for the floral origin, 28 were classified as polifloral and only 2 as monofloral. All honey samples showed antioxidant capacity, and most had dark color with higher content of total phenols. Positive correlations were found between total phenolic content, antioxidant capacity and color. Concerning propolis, the results revealed that the extracts exhibited strong antioxidant capacity. The quantitative variation of flavonoids, phenolics and antioxidant capacity in propolis were strongly influenced by the flora visited by bees, by geographic and edaphoclimatic factors. The honey and propolis produced in the region of northeastern Bahia, contribute to the development of the regional economy and their quality is reinforced by the present results.

Keywords: Beekeeping. Quality control. Pollen analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa do Estado da Bahia com a divisão em regiões	39
Figura 2 - Distribuição espacial dos municípios de coletas de amostras de mel e de própolis de abelhas <i>Apis mellifera</i> da Região Nordeste do Estado da Bahia.	40
Figura 3 - Fluxograma das análises utilizadas	41
Figura 4 - Padrão de cores para mel com referências	54
Figura 5 - Curva de calibração de FRAP, medida em absorvância a $\lambda = 595$ nm. Experimento realizado em triplicata.....	58
Figura 6 - Curva de calibração CUPRAC. Medida em absorvância a $\lambda = 450$ nm Experimento realizado em triplicata.....	59
Figura 7 - Tipos polínicos presentes nas amostras de mel de <i>Apis mellifera</i> L. da Região Nordeste do Estado da Bahia:	69
Figura 8 - Distribuição por família dos tipos polínicos presentes em 15 amostras de mel de <i>Apis mellifera</i> L., da Região Nordeste do Estado da Bahia, amostras 2009.....	71
Figura 9 - Distribuição por família dos tipos polínicos presentes em 15 amostras de mel de <i>Apis mellifera</i> L., da Região Nordeste do Estado da Bahia, amostras 2011.....	72
Figura 10 - Cores das amostras de méis de <i>Apis mellifera</i> 2011 - escala Pfund	85
Figura 11 - Resultados de HMF em amostras de méis de <i>Apis mellifera</i> , 2009.....	89
Figura 12 - Resultados de HMF em amostras de méis de <i>Apis mellifera</i> 2011	89
Figura 13 - Resultados de atividade diastásica em méis de <i>Apis mellifera</i> , amostras 2009.....	90
Figura 14 - Resultados de atividade diastásica em méis de <i>Apis mellifera</i> 2011	91
Figura 15 - Dendograma obtido por análise de cluster usando a distância Euclidiana média e o método UPGMA para 15 amostras de mel produzido por <i>Apis mellifera</i> na Região Nordeste do Estado da Bahia, em relação a características físico-químicas.....	104

Figura 16 - Dendograma obtido por análise de cluster usando a distância Euclidiana média e o método UPGMA para 15 amostras de mel produzido por <i>Apis mellifera</i> na Região Nordeste do Estado da Bahia, em relação a características antioxidantes e cor.....	107
Figura 17 - Fenóis totais de amostras de própolis, abelhas <i>Apis mellifera</i> da Região Nordeste do Estado da Bahia.	109
Figura 18 - Atividade sequestradora de radicais DPPH• em amostras de própolis de abelhas, <i>Apis mellifera</i> da Região Nordeste do Estado da Bahia.	110
Figura 19 - Capacidade antioxidante de própolis de abelhas, <i>Apis mellifera</i> da Região Nordeste, do Estado da Bahia - Método FRAP.....	111
Figura 20 - Teor de flavonóides nas amostras de própolis de <i>A. mellifera</i> da Região Nordeste do Estado da Bahia	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) e pelo CODEX ALIMENTARIUS (2001) para méis florais produzidos por <i>Apis mellifera</i> L.....	26
Tabela 2 - Classificação da cor do mel de acordo com Pfund.....	27
Tabela 3 - Distribuição das amostras de mel analisadas coletadas em 2009.....	42
Tabela 4 - Distribuição das amostras de mel analisadas coletadas em 2011	43
Tabela 5 - Parâmetros e referências indicadas	44
Tabela 6 - Distribuição das amostras (código) de própolis de abelhas <i>Apis mellifera</i> da Região Nordeste do Estado da Bahia, coletadas analisadas.	60
Tabela 7 - Lista dos códigos de identificação dos extratos produzidos de amostras de própolis de <i>Apis mellifera</i> da Região Nordeste do Estado da Bahia.	62
Tabela 8 - Caracterização melissopalínológica das amostras de méis de <i>Apis mellifera</i> analisadas, 2009.....	67
Tabela 9 - Caracterização melissopalínológica das amostras de méis de <i>Apis mellifera</i> analisadas, 2011.....	68
Tabela 10 - Parâmetros físico-químicos de méis de abelhas <i>Apis mellifera</i> , amostras colhidas em 2011.....	74
Tabela 11 - Parâmetros físico-químicos de amostras de méis de <i>Apis mellifera</i> no Brasil.	80
Tabela 12 - Parâmetros físico-químicos de amostras de méis de <i>Apis</i> em diversos países.....	82
Tabela 13 - Parâmetros físico-químicos de méis de abelhas <i>Apis mellifera</i> , amostras coletadas em 2009	87
Tabela 14 - Análises microbiológicas de mel de <i>Apis mellifera</i> produzido na Região Nordeste do Estado da Bahia: contagem padrão de bolores e levedura (UFC.g-1), aeróbios mesófilos e psicrótrópicos (UFC g-1), coliformes totais e termotolerantes (NMP g-1) (amostras, 2011).	92

Tabela 15 - TPC, DPPH, FRAP e CUPRAC de amostras de méis de <i>Apis mellifera</i> (amostras, 2011).....	96
Tabela 16 - Resultados comparativos de TPC e DPPH entre méis de diversos países.....	98
Tabela 17 - Correlação matrix (Coeficiente de correlação de Person) para determinação quantitativa de 15 amostras de méis de <i>Apis mellifera</i> da Bahia.	99
Tabela 18 - Correlação entre os resultados de fenólicos totais (TPC), FRAP, CUPRAC, DPPH e teor de água (%), minerais (%), açúcares redutores, atividade diastásica, acidez livre, pH e cor das amostras de méis.....	100
Tabela 19 - Análise de trilha mostrando os efeitos diretos e indiretos das variáveis umidade, minerais, açúcares redutores, atividade diastásica, acidez livre, pH e cor sobre CUPRAC, DPPH, FRAP e TPC.	101
Tabela 20 - Contribuição das variáveis para formação dos diferentes grupos das amostras de mel.....	105
Tabela 21 - Contribuição das variáveis para formação dos diferentes grupos das amostras de mel em relação as atividade antioxidantes e cor.	107
Tabela 22 - Conteúdo total de flavonóides, fenóis, DPPH e FRAP dos extratos etanólicos e metanólicos de própolis de abelhas <i>Apis mellifera</i>	114
Tabela 23 - Correlações de Pearson entre as variáveis Flavonóides, Fenóis, DPPH e FRAP de diferentes amostras de própolis.	115

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AA	Atividade antioxidante
Aa	Atividade de água
Abs	Absorvância
A.O.A.C.	“Analysis of the Association of Oficial Analytical Chemist” Análise da Associação Oficial de Química Analítica
BA	Bahia
BHA	Hidroxianisol butilado
BHT	Butil-hidroxitolueno
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CAC	Codex Alimentarium Commission
CUPRAC	Capacidade Antioxidante redutora do cobre
DPPH [*]	Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
DPPH-H	Difenil-picril-hidrazina reduzido
DPPHREM	DPPH remanescente
EAG	Equivalente de ácido gálico
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FAO	Organizações das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (“Food and Agriculture Organization”)
FRAP	Poder Antioxidante de Redução do ferro
HMF	Hidroximetilfurfural
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IN	Instrução Normativa
Inc.	Incidência
Meq	miliequivalente
NMP	Número mais provável
PA	Pólen acessório
PD	Pólen dominante
PII	Pólen isolado importante
PIO	Pólen isolado ocasional
RFC	Reagente Folin-Ciocalteu
RL	Radicais Livres
SAI	Sólidos Insolúveis em água

TEAC	Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox
TPC	Conteúdo total de fenóis
TFC	Conteúdo total de flavonóides
Trolox	6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchromano-2-acido carboxílico
UEPA	Unidade de Extração de Produtos Apícolas
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UV - vis	Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	Sobre as abelhas	18
1.2	Sobre a apicultura	19
1.3	Sobre a flora	20
1.4	Sobre o mel	22
1.4.1	Caracterização do mel: parâmetros físico-químicos, sensoriais e outros	26
1.4.1.1	A legislação brasileira.....	26
1.4.1.1.1	Características sensoriais	27
1.4.1.1.1.1	Cor do mel.....	27
1.4.1.1.1.2	Sabor e aroma.....	27
1.4.1.1.1.3	Consistência	28
1.4.1.1.2	Características físico-químicas.....	28
1.4.1.1.2.1	Indicadores de maturidade	28
1.4.1.1.2.2	Indicador de pureza.....	29
1.4.1.1.2.3	Indicador de deterioração.....	29
1.5	Sobre microorganismos no mel	31
1.6	Sobre a própolis	32
1.7	Sobre atividade antioxidante e o estresse oxidativo	32
1.7.1	Método utilizado na determinação do conteúdo total de fenóis	33
1.7.2	Capacidade antioxidante	34
1.7.2.1	Ensaio DPPH - Capacidade antioxidante.....	34
1.7.2.2	Ensaio FRAP - Capacidade antioxidante pelo método de redução do Ferro.....	35

1.7.2.3	Ensaio CUPRAC - Capacidade antioxidante pelo método de redução do cobre.....	35
1.8	Fontes de antioxidantes naturais e artificiais	35
2	OBJETIVO GERAL	38
2.1	Objetivos específicos:	38
3	MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1	Análises melissopalínológicas	43
3.2	Avaliação das características físico-químicas	44
3.2.1	Análises físico-químicas.....	44
3.2.1.1	Umidade	45
3.2.1.2	Açúcares redutores	45
3.2.1.3	Sacarose aparente	47
3.2.1.4	Minerais (cinzas)	49
3.2.1.5	Sólidos insolúveis em água	49
3.2.1.6	Hidroximetilfurfural (HMF)	50
3.2.1.7	Atividade diastásica.....	51
3.2.1.8	Acidez livre	52
3.2.1.9	pH.....	53
3.2.1.10	Cor.....	53
3.3	Análise microbiológica.....	54
3.3.1	Bolores e leveduras	54
3.3.2	Aeróbios mesófilos e psicrotróficos	55
3.3.3	Coliformes totais e termotolerantes	55
3.4	Capacidade Antioxidante das amostras de méis de <i>Apis mellifera</i>	56
3.4.1	Determinação do conteúdo total de fenóis.....	56
3.4.1.1	Método Folin - Ciocalteu.....	56

3.4.2	Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH*	56
3.4.3	Capacidade antioxidante pelo método de redução de ferro - FRAP.	58
3.4.4	Capacidade antioxidante pelo método de redução do COBRE - CUPRAC.....	59
3.5	Capacidade antioxidante das amostras de própolis	60
3.5.1	Extração.....	60
3.5.2	Determinação do conteúdo total de fenóis.....	63
3.5.3	Antioxidantes	63
3.5.3.1	Atividade Antioxidante frente ao DPPH	63
3.5.3.2	Atividade Antioxidante de Redução do Ferro - Método FRAP.....	63
3.5.4	Conteúdo total de flavonóides (TFC).....	64
3.6	Análise estatística	64
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.1	Identificação da origem floral das amostras de mel	65
4.2	Análises físico-químicas	73
4.2.1	Teor de umidade.....	75
4.2.2	Açúcares redutores totais	75
4.2.3	Sacarose aparente (açúcares não-redutores)	76
4.2.4	Minerais (teor em cinzas).....	76
4.2.5	Sólidos insolúveis	76
4.2.6	Hidroximetilfurfural (HMF).....	77
4.2.7	Atividade diastásica	77
4.2.8	Acidez livre	78
4.2.9	Valores de pH.....	79
4.2.10	Cor.....	85
4.2.11	HMF	88

4.2.12	Atividade diastásica	90
4.2.13	Acidez	91
4.3	Análises Microbiológicas	91
4.4	Determinação do teor de fenólicos totais (TPC) e capacidade antioxidante de méis	95
4.5	Análise de correlações de mel	98
4.5.1	Análise de trilha	99
4.6	Própolis	108
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	116
6	PERSPECTIVAS	117
	REFERÊNCIAS	118

1 INTRODUÇÃO

Com a expansão das abelhas africanizadas em todo território brasileiro, tornou-se viável o aproveitamento de sua produção aos pequenos e médios agricultores, propiciando-lhes mel e pólen como alimento e própolis e apitoxina no âmbito da apiterapia (SOMER, 2002).

Com o crescente desenvolvimento da atividade apícola em todo o nordeste brasileiro e especificamente na Bahia, e a necessidade de qualidade de produtos apícolas, faz-se necessário avaliar a qualidade microbiológica de méis produzidos por apicultores da Região Nordeste do Estado da Bahia.

As análises físico-químicas (umidade, acidez livre, pH, hidroximetilfurfural (HMF), açúcares redutores, sacarose aparente, sólidos insolúveis em água, cinzas, cor) são importantes para avaliar a produção de mel, assegurar a autenticidade quanto aos requisitos legais e caracterizá-lo quanto às propriedades de segurança alimentar.

A produção de mel de abelhas *Apis mellifera* L. no Brasil em 2011 (IBGE, 2013) foi de 41.398.373 kg, sendo o Nordeste brasileiro o maior produtor com a produção de 16.911.251 kg, seguidos da região sul do com 16.154.578 kg, região sudeste com 6.149.977 kg, centro-oeste com 1.416.257 kg e região norte com 766.310 kg.

Na região semiárida do nordeste do Brasil, onde existe uma flora muito diversa, as características físico-químicas, propriedades biológicas de mel ainda são pouco exploradas. Na Bahia, a produção de mel em 2011 (IBGE, 2013) foi de 2.646.399 kg. O mel produzido na Região Nordeste do Estado da Bahia, em 60 municípios do total de 417, em 2011, foi de 1.375.203 kg (52% da produção total do estado da Bahia) e não foi, ainda, caracterizado.

1.1 Sobre as abelhas

As abelhas constituem um dos grupos de insetos mais importantes para o homem, por permitir a exploração econômica de seus produtos e, principalmente,

por contribuir para o aumento da produção de frutos e sementes de diversos vegetais de interesse agroflorestal. Além disso, desempenham papel importante na manutenção das comunidades de plantas e animais nos ecossistemas naturais (JANZEN, 1980; FREE, 1993).

As abelhas visitantes de flores são atraídas para coletar pólen ou néctar, promovendo, em muitos casos, a polinização cruzada (CRANE, 1983). As cores e os odores das flores são os principais fatores que possibilitam a localização do alimento pelos insetos. A concentração de açúcares, abundância e o sabor do néctar também exercem atração para os insetos (FAEGRI e PIJIL, 1976; BARTH, 1991).

Sua importância pode ser calculada pelo seu papel como polinizador, contribuindo na manutenção das comunidades de vegetais e animais. De acordo com Kerr et al. (1994), nas florestas brasileiras, as abelhas se constituem nos principais polinizadores de 40 a 90% das árvores, conforme o ecossistema. Elas são consideradas os melhores agentes polinizadores das plantas, devido, principalmente, ao seu hábito de visitar centenas de flores durante cada viagem ao campo. Isso facilita a troca de grãos de pólen entre os órgãos sexuais das plantas, propiciando a polinização das flores e favorecendo a fertilização de um número maior de óvulos. Freitas (1998), afirma que a eficiência com que cada espécie de abelha realiza seu trabalho de polinização é variável de espécie vegetal para espécie vegetal.

Como agentes de manutenção da biodiversidade, as abelhas podem ser indicadores biológicos do equilíbrio ambiental, o que é muito útil no esforço pela conservação da biodiversidade e exploração sustentável do meio ambiente. A apicultura e a meliponicultura constituem-se em alternativas ecologicamente corretas e autossustentáveis para explorar ambientes naturais ainda não degradados, ou recuperar áreas ameaçadas de erosão genética (FREITAS, 2000).

1.2 Sobre a apicultura

A apicultura vem se desenvolvendo de forma acelerada em todas as regiões do Brasil, em especial no Nordeste, sendo que o principal produto explorado pelos

apicultores ainda é o mel.

Freitas (1996) relatou que a chave de uma apicultura produtiva é o conhecimento pelo apicultor do comportamento dos fluxos de néctar em uma região.

A atividade apícola se enquadra perfeitamente nas políticas de desenvolvimento sustentável e a produção de mel depende essencialmente da preservação da vegetação, pois nela está a matéria-prima utilizada pelas abelhas na elaboração de seus produtos. Isto certamente incentivará a preservação e utilização racional dos seus recursos, especialmente de sua flora (CAVALCANTI, 2002).

A preservação da biodiversidade é importante para a produção, portanto é necessário realizar estudos científicos, para que se possa explorar a apicultura racionalmente (ALMEIDA, 2005c). É importante ressaltar que as condições geoambientais da caatinga proporcionam uma produção de mel de alta qualidade, sendo sua produção quase totalmente exportada para os mercados europeu e norte americano. Segundo o Sistema de Produção de Apicultura para o Estado da Bahia, na produção de mel, as abelhas de um apiário têm uma área racional de ação, para a coleta dos recursos alimentares (pólen, mel e resina) em um raio de aproximadamente 1.500 metros (BAHIA, 2000), isso implica em diversos problemas econômicos e sociais, caso a atividade apícola não seja trabalhada de forma sustentada, podendo causar colapso em termos de produção e produtividade.

1.3 Sobre a flora

Com a expansão das abelhas africanizadas em todo território brasileiro, tornou-se viável o aproveitamento de sua produção aos pequenos e médios agricultores, propiciando-lhes mel e pólen como alimento e própolis e apitoxina no âmbito da apiterapia (SOMER, 2002).

A identificação da flora visitada pelas abelhas em uma determinada região é necessária para a exploração racional das colônias e para o desenvolvimento de programas de conservação da fauna apícola. A observação direta e constante das plantas fornece informações práticas e valiosas, como dados de floração, frequência

de visita das abelhas às flores e a hora do dia em que ocorreu a visita (CARVALHO et al., 1999; ALVES; CARVALHO, 2002).

Existe uma tendência dos apicultores em considerar como plantas apícolas apenas aquelas espécies que dispõem de floração intensa, durante grandes fluxos de néctar, imediatamente anterior à colheita de excedentes de mel. Porém, o conceito de flora apícola é muito mais amplo que este, ou seja, muitas plantas que não florescem em abundância são fundamentais para a exploração apícola (FREITAS, 1996).

A flora brasileira é bastante diversificada, em consequência, sobretudo da extensão territorial do país e da variabilidade climática existente. O Brasil tem um potencial apícola bastante grande, diferenciando-se dos demais países que normalmente produzem mel uma única vez por ano (MARCHINI et al., 2004a).

A caatinga é a principal formação vegetal do semi-árido nordestino. O semi-árido brasileiro abriga uma área de 20 milhões de habitantes, sendo a região semi-árida mais populosa do mundo (ROCHA et al., 2007). O bioma caatinga, incluindo diversas formações vegetais, ocupa a maior parte dessa região. Esse ecossistema é muito importante do ponto de vista biológico por ser um dos poucos que tem distribuição restrita no Brasil. Dentre os biomas brasileiros, é o menos conhecido cientificamente e vem sendo tratado com baixa prioridade, devido ao uso inadequado e insustentável dos seus solos e recursos naturais, e por cerca 1% de remanescentes protegidos por unidades de conservação (ROCHA et al., 2007).

No semi-árido nordestino, o pasto apícola é formado pelas plantas nativas e espécies cultivadas pelo homem, produtoras de flores que, em sua estrutura orgânica, disponibilizam o néctar para a produção do mel, cera, pólen e resinas para produção da própolis (BAHIA, 2000). O fluxo de pólen e néctar nessa vegetação apresenta pico durante a estação chuvosa, caindo abruptamente na estação seca. Desta forma, a estação de chuvas constitui a época apropriada tanto para a exploração de pólen quanto de mel pelas abelhas eussociais (FREITAS, 1996).

Dentre as informações de interesse apícola, a vegetação da caatinga tem sido pouco estudada, porém, alguns trabalhos (PEREIRA et al., 1989; FREITAS, 1991, 1994, 1996; LIMA e SOUZA, 1992; CASTRO, 1994; NUNES, 1994; LIMA, 1995; CARVALHO e MARCHINI, 1999; SANTOS JÚNIOR e SANTOS, 2003; ALMEIDA, 2005 a e b; ALMEIDA et al., 2006; ALMEIDA, 2007; SILVA, 2006; SANTOS et al., 2006; SODRÉ et al., 2011) têm contribuído para a identificação das principais plantas fornecedoras de pólen e néctar para as abelhas e para a determinação dos padrões de fluxo de pólen e néctar na caatinga.

Almeida (2005a) em levantamento das plantas visitadas por *Apis mellifera* em Nova Soure, Bahia, analisou o espectro polínico de amostras de mel e pólen apícola, e observou a família Mimosaceae como a mais visitada pelas abelhas e a mais representada tanto nas amostras de mel como no pólen apícola. Já, em Cipó, Bahia, Almeida (2005b), observou-se que a família Mimosaceae apresenta maior diversidade de espécies visitadas por *Apis*; em Nova Soure. Almeida et al. (2006) concluiu que a flora visitada por *Apis* para coleta de néctar e/ou pólen no município de Nova Soure, é constituída por diversas espécies nativas, o que reforça a necessidade de programas de preservação da flora.

Por definição, melissopalínologia é a ciência que estuda grãos de pólen em relação a produtos das abelhas (BART, 2004). A melissopalínologia é um método tradicionalmente usado para determinar a origem botânica do mel (MAURIZIO, 1975; LOUVEAUX et al., 1978; COTTE et al., 2004; BARTH, 2004) e permanece até hoje como o método de referência, tendo como desvantagens o fato de que a contagem, a identificação e a interpretação dos dados de análise de pólen exigem especialistas treinados. O termo monofloral é usado para descrever o mel produzido principalmente a partir de uma espécie de planta, que geralmente representa mais de 45% de pólen dominante (PD) do conteúdo total do pólen (MAURIZIO, 1975).

1.4 Sobre o mel

Entende-se por mel, o produto alimentício produzido por abelhas melíferas, a partir do néctar de flores ou de 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 maturar nos favos da colmeia, segundo a Instrução Normativa Nº 11, de 20 de Outubro de 2000 (BRASIL, 2000).

O mel é um alimento que tem sido utilizado pela humanidade, desde as mais remotas épocas, apreciado pelo seu sabor característico e seu considerável valor nutritivo (DAELLEN-BACH, 1981). É um produto elaborado a partir do néctar das plantas e processado pelas abelhas (BRASIL 2000); é rico em diferentes metabólitos secundários de plantas que contêm uma variedade de compostos orgânicos com propriedades antioxidantes e seqüestradoras de radicais, atividade essa, responsável por sua ação como antioxidante natural (ZALIBERA et al., 2008). Contribue para a saúde (ULUSOY; KOLAYLI; SARIKAYA, 2010; SILICI; SAGDIC; EKICI, 2010) e nutrição humanas (ZALIBERA et al., 2008).

Ele é classificado da seguinte maneira:

Mel Floral: é o mel obtido dos nectários das flores.

a) Mel unifloral ou monofloral: é o mel originado de flores de uma mesma família, gênero ou espécie e possui características sensoriais, físico-químicas e microscópicas próprias.

b) Mel multifloral ou polifloral: é o mel obtido a partir de diferentes origens florais.

Melato ou Mel de Melato: é o mel obtido principalmente a partir de secreções das partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas.

A importância do mel para os seres humanos é relatada e mostrada em vários textos da Grécia antiga (ODEH et al., 2007; ALLSOP e MILLER, 1996). A qualidade depende de suas propriedades físico-químicas e sensoriais (ALMEIDA-MURADIAN, 2008; CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2010).

O mel é uma solução concentrada de açúcares com predominância de glicose e frutose (BOGDANOV, 2009). Contém ainda uma mistura complexa de outros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, minerais, substâncias aromáticas, vitaminas, flavonóides, ácidos fenólicos (KHALIL, ALAM et al., 2011), outros fitoquímicos, dependendo de sua origem (SILICI; SAGDIC; EKICI, 2010; BRUDZYNSKI e KIM, 2011), pigmentos e grãos de pólen, podendo conter cera de abelhas procedente do processo de extração (BRASIL, 2000).

A composição do mel pode variar com diferentes fontes florais, bem como as condições climáticas e ambientais (GHELDOLF; WANG; ENGESETH, 2002; ALJADI e KAMARUDDIN, 2004; KÜÇÜK et al., 2007; BALTRUSAITYTE, VENSKUTONI e CEKSTERYTE, 2007).

Khalil, Mahaneem et al. (2011) identificaram um total de 6 ácidos fenólicos (gálico, siringico, benzóico, trans-cinâmico, p-cumárico e ácido cafeico) e 5 flavonóides (catequina, kaempferol, naringenina, luteolina, apigenina) em mel da Malásia TUALANG produzido por *Apis dorsata* de origem asiática. Em Córdoba, na Argentina, Baroni et al. (2006) identificaram seis compostos como octanal, benzenoacetaldéido, 1-octanol, 2-metoxifenol, nonanal, e 2-*H*-1-benzopiran-2-ona, determinando assim os compostos orgânicos voláteis e da origem floral do mel. D'Arcy et al. (1997) identificaram 55 compostos a partir de mel da Austrália que incluem nor-isoprenóides, monoterpenos, derivados de benzeno, compostos alifáticos e os produtos da reação de Maillard. Pyrzynska e Biesaga (2009) identificaram ácidos fenólicos e flavonóides em mel de acácia como rutina, miricetina, naringina, naringenina, quercetina e apigenina. Stephens e colaboradores (2010) identificaram compostos fenólicos e metilglioxal, em méis da Nova Zelândia. Tuberoso et al. (2010), na Itália observou a presença de lumicromo e de níveis elevados de ácido fenilacético. Em mel na Eslovénia, Bertonclj e colaboradores (2011) identificaram flavonóides, como miricetina, luteolina, quercetina, naringenina, apigenina, kaempferol, pinocembrina, crisina, galangina e pinobanksina e dois compostos derivados do ácido abscísico: ácidos *cis,trans* e *trans,trans*-abscísico.

No Brasil, o mel de laranja de Taubaté, em São Paulo foi estudado por Lianda

e Castro (2008) que isolaram e identificaram morina. Na análise de mel do Piauí com a caracterização físico-química do mel de abelhas proveniente da florada do cajueiro, Bendini e Souza (2008) observaram cor escura, acidez acentuada e quantidade relativamente alta de aminoácidos.

Os antioxidantes presentes no mel incluem ácido ascórbico, α -tocoferol (CRANE, 1975), carotenóides, aminoácidos, proteínas, ácidos orgânicos, produtos da reação de Maillard (AL-MAMARY et al., 2002; GHELDOF e ENGESETH 2002; GHELDOF; WANG; ENGESETH, 2002); SCHRAMM et al., 2003; ALJADI e KAMARUDDIN 2004; BERTONCELJ et al., 2007; BURATTI; BENEDETTI; COSIO, 2007), e enzimas: glucose oxidase e peroxidase (BERTONCELJ et al., 2007).

O mel pode ter várias aplicações, por exemplo, como anti-bacteriano (BRUDZYNSKI e KIM, 2011). O valor terapêutico do mel tem sido atribuído em parte às suas propriedades antioxidantes (GHELDOF e ENGESETH, 2002; ALJADI e KAMARUDDIN, 2004). O mel pode contribuir para diminuir e prevenir o estresse oxidativo. Muitos estudos têm demonstrado que o mel serve como fonte de antioxidantes naturais (ALVAREZ-SUAREZ, GONZÁLEZ-PARAMÁS et al., 2010a). Saxena, Gautam e Sharma (2010b) afirmam que a propriedade antioxidante do mel é principalmente devido ao seu teor de prolina e tem demonstrado reduzir o risco de doença cardíaca, câncer (SARIKAYA et al., 2009), catarata e processos inflamatórios (ULUSOY; KOLAYLI; SARIKAYA, 2010; SAXENA, GAUTAM e SHARMA 2010a; KISHORE et al., 2011). Outros componentes do mel responsáveis por seu efeito antioxidante são os compostos fenólicos (GÓMEZ-CARAVACA et al., 2006; ALVAREZ-SUAREZ, TULIPANI et al., 2010b).

A capacidade antioxidante depende de vários fatores, como origem floral sazonalidade e fatores ambientais (SILVA, MAIA et al., 2008; ALVAREZ-SUAREZ, GONZALEZ-PARAMÁS et al., 2010a), bem como o método de processamento do mel (ALVAREZ-SUAREZ, TULIPANI et al., 2010b).

Vários métodos têm sido aplicados, nos últimos anos, para avaliar a capacidade antioxidante de amostras de mel. Estes serão descritos em seção

própria.

1.4.1 Caracterização do mel: parâmetros físico-químicos, sensoriais e outros

As análises físico-químicas de méis são realizadas com o objetivo de comparar os resultados obtidos com padrões de órgãos oficiais, como também, possibilitar a fiscalização de méis com relação às suas alterações.

1.4.1.1 A legislação brasileira

No Brasil, as normas são estabelecidas pela instrução normativa número 11 de 2000, que preconiza os parâmetros sensoriais, físicos e químicos como requisitos para a qualidade e classificação do mel (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) e pelo CODEX ALIMENTARIUS (2001) para méis florais produzidos por *Apis mellifera* L.

Parâmetro	Indicador	BRASIL (2000)	CODEX (2001)
Umidade (% máximo)	De maturidade	20	20
Açúcares redutores (% mínimo)	De maturidade	65	60
Sacarose Aparente (% máximo)	De maturidade	6	5
Sólidos insolúveis em água (% máximo)	De pureza	0,1	0,1
Conteúdo mineral (cinzas)	De pureza	0,6	0,6
Acidez (meq.kg ⁻¹ máximo)	De deterioração	50	50
Atividade de Diástase (Escala Gothe mínimo)	De deterioração	8**	8
Hidroxiacetilfurfural (mg kg ⁻¹ máximo)	De deterioração	60	40 (80***)
Cor	Sensorial	De quase incolor a pardo-	Incolor a pardo-escuro

A unidade de diástase na escala de Gothe; **Aceita-se 3 desde que o HMF não exceda 15; *** HMF, admite até 80 ***países tropicais.

Fonte: Autor, 2013.

1.4.1.1.1 Características Sensoriais

1.4.1.1.1.1 Cor do mel

A cor do mel é variável e é um fator determinante no mercado mundial. Há uma tendência dos méis claros serem mais preferidos pelos consumidores, conseqüentemente, têm um maior valor comercial que os escuros. Os méis são ordenados do branco d'água ao âmbar escuro (Tabela 2), conforme padrões estabelecidos na escala de Pfund (MARCHINI et al., 2004a).

A cor também pode ser influenciada pelo conteúdo de minerais. Méis mais claros contém níveis mais baixos destes componentes. Os ácidos, o conteúdo de nitrogênio, de frutose, cor inicial e produção de HMF também interferem na coloração dos méis. O mel torna-se mais escuro durante o armazenamento e este processo pode ser acelerado na estocagem em temperaturas altas (CRANE, 1983).

Tabela 2 - Classificação da cor do mel de acordo com Pfund

Cor	Escala de Pfund (mm)*	Faixa de cor **
Branco d'água	1 a 8	0,030 ou menos
Extra – branco	Mais de 8 a 17	Mais de 0,030 a 0,060
Branco	Mais de 17 a 34	Mais de 0,060 a 0,120
Extra âmbar claro	Mais de 34 a 50	Mais de 0,120 a 0,188
Âmbar claro	Mais de 50 a 85	Mais de 0,188 a 0,440
Âmbar	Mais de 85 a 114	Mais de 0,440 a 0,945
Âmbar escuro	Mais de 114	Mais de 0,945

*milímetros, ** incidência (absorvância a 560 nm em espectrofotômetro)

Fonte: Autor, 2013.

1.4.1.1.1.2 Sabor e aroma

O sabor e o aroma característicos são conferidos aos alimentos pela presença dos compostos voláteis. Méis de origens botânicas diversas possuem aromas e sabores diferentes. Estas características dependem de substâncias complexas no mel, ou derivadas das suas fontes vegetais, então, méis diferentes têm aromas e sabores diferentes (CRANE, 1983).

1.4.1.1.1.3 Consistência

A consistência é variável de acordo com o estado físico em que o mel se apresenta. O mel pode ser classificado em cristalizado ou granulado e cremoso.

1.4.1.1.2 Características físico-químicas

A Instrução Normativa Nº 11, de 20 de Outubro de 2000 estabelece normas para o controle de qualidade do mel de abelhas *Apis mellifera*, definido em três grupos: parâmetros de maturidade, de pureza e de deterioração do mel (BRASIL, 2000) (Tabela 1).

1.4.1.1.2.1 Indicadores de maturidade

Os indicadores de maturidade do mel são parâmetros de análise da qualidade do mel, representados na sua maior parte por açúcares e umidade.

a) açúcares (Glicose, frutose, sacarose etc.)

Na maioria dos méis de *Apis mellifera* predomina a frutose. A sacarose apresenta médias de 0,7% e faixa de 0,1 a 4,8% Bogdanov (2011), em carboidratos. Quando superior a este valor, geralmente indica um mel verde ou adulterado. A cristalização do mel, também chamada granulação, é um processo indesejável porque afeta as propriedades sensoriais e físico-químicas, tornando-o menos atraente para o consumidor, que prefere o mel líquido e/ou transparente. A cristalização pode ser influenciada por várias causas, dentre elas: cristais puros de hidratos de dextrose, bolhas de ar e pólen.

b) Umidade

O teor de umidade é o segundo componente em quantidade, variando de 15 a 20%, conforme o clima, a origem floral e época de colheita. Muitos fatores estão diretamente relacionados com o teor de umidade, como o sabor, aroma, densidade, cor e a viscosidade do mel. O mel contém naturalmente diferentes leveduras que

pode causar fermentação indesejável. As leveduras podem se desenvolver, principalmente em méis com alto teor de umidade (BOGDANOV, 2011).

1.4.1.1.2.2 Indicador de Pureza

a) Cinzas

O teor de cinzas contribui para o escurecimento do mel (CRANE, 1983) e está relacionado à origem botânica (BOGDANOV, 2011). O mel contém a maioria dos elementos químicos essenciais para o organismo, desta forma, a sua inclusão na dieta diária ajudaria a eliminar a sua deficiência.

b) Sólidos insolúveis

Os sólidos insolúveis em água correspondem aos resíduos de cera, patas e asas das abelhas, além de outros elementos inerentes do mel ou de seu processamento. A realização desta análise permite detectar as impurezas presentes no mel, tornando-se uma importante medida de controle higiênico (SILVA et al., 2006).

c) Pólen

O mel deve necessariamente apresentar grãos de pólen.

1.4.1.1.2.3 Indicador de deterioração

a) Hidroximetilfurfural (HMF)

O hidroximetilfurfural (HMF) é formado pela reação de certos açúcares em presença de ácidos. O seu conteúdo pode aumentar com a elevação da temperatura, armazenamento e adição de açúcar invertido. A sua concentração no mel pode ser afetada pela acidez, pH, água e minerais. O HMF é um indicador da qualidade do mel, pois seu aumento é um indicador da queda do valor nutritivo do mesmo, pela destruição, por meio do aquecimento, de algumas vitaminas e enzimas que são termolábeis.

Este parâmetro de qualidade do mel é usado como um indicador de aquecimento e modificações decorrentes de armazenamento incorreto do mel. O HMF ocorre naturalmente no mel (normalmente na faixa de 1 mg/kg). Para Janzowski et al. (2000) e Louise et al. (2009), o HMF só ocasiona dano ao DNA em concentrações muito elevadas e, que normalmente, estão associadas à diminuição concomitante na viabilidade celular. O mel, quando estocado à 20°C, aumenta em cerca de 1 mg/kg/mês, a quantidade de HMF.

b) Diastase

A diastase ou amilase é uma enzima, adicionada ao mel pelas próprias abelhas melíferas, que tem como função digerir o amido. É proveniente das glândulas hipofaríngeas das abelhas, podendo ser encontrada também, em baixa intensidade, nos grãos de pólen. A atividade diastásica, segundo Bogdanov et al. (2004) é uma das principais características para a avaliação do “frescor” do mel, é utilizado como indicador de aquecimento e frescor (BOGDANOV et al., 2004).

O índice de diastase é utilizado para avaliar a qualidade do mel, fornecendo indicações sobre o grau de conservação e aquecimento, o que compromete a qualidade do produto. É quantificada normalmente através da α -amilase.

c) Acidez e pH

A acidez deve-se à quantidade de minerais presentes no mel e às variações de conteúdo de ácidos orgânicos causadas pelas diferentes fontes de néctares, pela ação da enzima glicose oxidase que origina o ácido glucônico, pela ação das bactérias durante a maturação do mel e pelas quantidades de minerais presentes no mel (HORN et al., 1996).

A determinação do pH no mel pode ser utilizada como uma análise auxiliar para a avaliação da acidez total (LEGLER, 2013). Todos os méis são ácidos, com valor de pH variando entre 3,5 e 4,5 e médias de 3,9 (BOGDANOV, 2011). Valores diferentes desta faixa podem indicar fermentação ou adulteração do mel (FRIAS e HARDISSON, 1992).

O pH e a acidez são considerados importantes parâmetros para o controle microbiano, utilizados para avaliar a estabilidade, quanto ao desenvolvimento de microrganismos (MARCHINI et al., 2004a), promovendo maior estabilidade ao produto quanto à contaminação por microrganismos.

1.5 Sobre microorganismos no mel

Os microrganismos de importância nas análises de mel são os fungos, leveduras e bactérias formadoras de esporos. Os fungos e leveduras são responsáveis pela fermentação do mel, quando o teor de umidade é superior a 21% (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007)

A presença de fungos no mel está ligada ao contato com o conteúdo intestinal das abelhas melíferas (ESTEVINHO et al., 2012).

Do ponto de vista microbiológico, valores baixos de bolores e leveduras são mais provavelmente relacionados com as condições ambientais e são indicativos de uma atividade adequada dos apiários.

As qualidades microbiológicas do mel estão relacionadas aos cuidados de higienização dos materiais utilizados e manipulação do produto (SILVA, CHAVES et al., 2008).

As fontes de contaminação são controladas com a adoção de boas práticas de fabricação (BPF). As etapas da contaminação podem ocorrer da colheita ao beneficiamento se cuidados não forem adotados como, manipulação e higienização dos materiais e equipamentos (SILVA, CHAVES et al., 2008).

Diversos estudos no mundo têm relatado as características microbiológicas do mel (FINOLA, LASAGNO, MARIOLI, 2007; GOMES et al., 2010; SANTOS et al., 2011; ESTEVINHO et al., 2012; VOIDAROU et al., 2011). No entanto, a qualidade microbiológica do mel pode servir como um indicador das condições higiênicas utilizadas no processamento do produto.

1.6 Sobre a própolis

A própolis é uma denominação usada para o produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, colhidas pelas abelhas, de brotos, flores e exsudados de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto (BRASIL, 2001).

A própolis é utilizada pelas abelhas para tampar buracos, diminuir o alvado, unir os quadros, desinfetar os alvéolos e mumificar pequenos animais que entram e morrem nas colmeias quando as abelhas não conseguem retirá-los (PARK et al., 1995; MARCUCCI, 1996).

A própolis tem sido utilizada na medicina popular desde antes de cristo (Ac). Entretanto, foi a partir da década de 80 que seu uso vem aumentando e ganhando mais popularidade principalmente na medicina alternativa (BANSKOTA; TEZUKA; KADOTA, 2001).

Os extratos etanólicos de própolis são extensivamente utilizados em diversas situações na forma de spray ou diluídos em água, além de ser utilizado em alimentos (balas), em produtos de higiene pessoal (xampu, sabonete e creme dental), assim como, em dermocosméticos (PEREIRA; SEIXAS; AQUINO NETO, 2002). A própolis, nestas últimas décadas, deixou de ser descartada pelos apicultores e passou a integrar o contexto de outros produtos apícolas comerciais.

Na bovinocultura, a própolis foi utilizada contra bactérias isoladas do leite de vacas com mastite, comprovando eficientes resultados (PINTO et al., 2001).

Apesar da grande importância da própolis nas diversas áreas de interesse socioeconômico, não são conhecidas informações básicas sobre a produção e composição na Região Nordeste do Estado da Bahia.

1.7 Sobre Atividade Antioxidante e o Estresse Oxidativo

Estresse redox é comumente definido como o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio, de nitrogênio e de enxofre, entre outras, e a

remoção destas pelos sistemas químicos e enzimáticos de defesa antioxidante e, também, pelo reparo enzimático das biomoléculas lesadas (OLIVEIRA et al, 2009).

As espécies reativas de oxigênio e nitrogênio exercem diferentes papéis no organismo e encontram-se envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes, no entanto, em excesso, causam danos oxidativos a macromoléculas biologicamente importantes como lipídios, proteínas e ácidos nucléicos (OLIVEIRA et al, 2009).

Antioxidantes são substâncias que, presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato.

Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (BERETTA et al., 2005; HUANG et al., 2005).

Como forma de proteção, os seres humanos podem se proteger destes danos prejudiciais, pela ingestão de alimentos com elevado potencial antioxidante.

1.7.1 Método utilizado na determinação do conteúdo total de fenóis

Para a determinação do conteúdo total de fenóis utiliza-se o reagente de Folin-Ciocalteu (RFC), que consiste da mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6+ (VI) (cor amarela), porém, em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 (V) e 6 (VI) e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras.

Em meio básico, o ácido gálico (composto fenólico) é desprotonado, gerando o carboxilato. Em uma reação de oxirredução entre o ânion e RFC, o metal sofre redução Mo^{5+} e o meio reacional muda de coloração amarela para azul.

1.7.2 Capacidade antioxidante

1.7.2.1 Ensaio DPPH - Capacidade antioxidante

O teste DPPH é um dos métodos indiretos mais antigo para se determinar a atividade antioxidante, tendo sido utilizado originalmente em 1950, para se descobrir os doadores de hidrogênio em matérias naturais.

É muito utilizado para se determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas como: compostos fenólicos (SOUSA et al., 2007), fenilpropanoides, fenólicos totais, flavonóides (LEJA et al., 2007) e cumarinas (VOGEL et al., 2004).

A ação do radical DPPH[•] é acompanhada pelo monitoramento da diminuição da absorvância a 515 nm, que ocorre devido a sua reação com antioxidantes ou com radicais livres (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

A capacidade antioxidante é influenciada pelo substrato utilizado no ensaio, pelo solvente e pela técnica de extração utilizada, bem como pela temperatura e o tempo.

Este método consiste em avaliar a capacidade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), de coloração púrpura que absorve em um comprimento de onda de 515 nm. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R[•]), o DPPH[•] é reduzido formando 2,2-difenil-picril-hidrazina (DPPH-H).

O DPPH[•] é um radical livre, estável à temperatura ambiente, que produz uma coloração violeta quando em contato com etanol. Este radical é reduzido na presença de uma molécula de antioxidante doador de hidrogênio. O DPPH[•] captura os hidrogênios mudando a coloração de violeta para amarelo, passando para sua forma estável DPPH-H. O radical DPPH[•] mostra forte banda de absorção em 515 nm.

Os radicais livres de DPPH, que inicialmente apresentam cor roxa por possuírem elétron livre, perdem esta cor quando um radical hidrogênio doado por

uma molécula antioxidante reduz o DPPH^{*}, diminuindo-se, assim, a intensidade da absorvância.

1.7.2.2 Ensaio FRAP - Capacidade Antioxidante pelo Método de Redução do Ferro

O ensaio FRAP mede a capacidade dos antioxidantes para reduzir a férrico TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) complexo $[\text{Fe (III) - (TPTZ)}^2]^3$ + a intensamente azul complexo colorido ferroso $[\text{Fe (II) - (TPTZ)}^2]^2$ + em meio ácido.

O método se baseia na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzirem em meio ácido pH (3,6), o complexo Fe^{3+} / (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) TPTZ, para formar Fe^{2+} , coloração azul a uma absorção de 595 nm.

1.7.2.3 Ensaio CUPRAC - Capacidade antioxidante pelo método de redução do cobre

O método se baseia na redução de Cu (II) a Cu (I) por redutores (antioxidantes) presentes na amostra em solução hidroetanólica contendo neocuproína (NC, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina) e tampão acetato de amônio (NH_4Ac , pH 7,0).

O ensaio CUPRAC usa o cobre neocuproína II reagente cromogênico como oxidante que é facilmente acessível, estável e seletivo, é capaz de responder a todos os tipos de antioxidantes biológicos como, por exemplo, β -caroteno, ácido ascórbico e também antioxidante presentes em alimento e vegetais como, por exemplo, flavonóides e ácidos fenólicos (APAK, 2011).

1.8 Fontes de antioxidantes naturais e artificiais

A adição de antioxidantes aos alimentos industrializados tem sido prática corrente. Os antioxidantes sintéticos utilizados para preservar alimentos são o hidroxianisol butilado (BHA), o hidroxitolueno butilado (BHT), o galato de propila, a *terc*-butil-hidroquinona e os sorbatos (2,4-hexadienoatos). Estudos demonstraram que BHA e BHT podem se acumular no corpo o que pode resultar em danos ao

fígado. A substituição de antioxidantes sintéticos por naturais pode apresentar vantagens devido a implicações na área de saúde (OLIVEIRA et al., 2009)

Vários aspectos relativos aos antioxidantes naturais têm sido objeto de pesquisa. Estudos epidemiológicos têm mostrado que dietas ricas em frutas e verduras estão associadas a uma menor incidência de doenças crônicas e degenerativas. Um dos principais aspectos relacionados ao efeito protetor desses alimentos tem sido atribuído, em parte, à presença de compostos antioxidantes, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos, além dos bem conhecidos β -caroteno, vitaminas C e E (VASCONCELOS, SILVA e GOULART, 2006).

As substâncias fenólicas ou polifenóis são um dos mais importantes grupos de substâncias que ocorrem nas plantas. Oliveira et al. (2009) em estudo de Fontes Vegetais Naturais de Antioxidantes, relata que as pesquisas nessa área é de grande interesse para os diversos setores do conhecimento, uma vez que envolve aspectos da química, nutrição, agronomia, biologia, estatística e medicina, entre outras, no sentido de encontrar respostas para promoção da saúde das pessoas. As substâncias fenólicas contribuem para as propriedades antioxidantes e sensoriais (cor, aroma, adstringência) de frutas, mel, bebidas e vegetais (ESTEVINHO et al., 2008).

Além das frutas e vegetais, o mel, pode ser uma boa fonte de antioxidantes naturais de interesse farmacológico. Pode, ainda, prevenir reações oxidativas de deterioração nos alimentos como o acastanhamento enzimático de frutas e vegetais. Como já comentado, é um produto alimentar rico tanto em antioxidantes enzimáticos (glucose oxidase e catalase) como não enzimáticos, como ácido ascórbico, flavonóides, ácidos fenólicos, derivados de carotenóides, ácidos orgânicos e outros. Atualmente, têm sido publicados alguns trabalhos sobre a avaliação da atividade antioxidante do mel (MUÑOZ et al., 2007; GIOVANELL e BURATI, 2009; PICHICHERO et al., 2009; HUSSEIN et al., 2011) a qual está correlacionada com o conteúdo em compostos fenólicos e, conseqüentemente, com a sua origem botânica.

A maior produção de mel no Brasil está na região Nordeste (41%), seguidas da região Sul (39%), região Sudeste (15%), região Centro oeste (3%) e região Norte (2%) (IBGE, 2013). No entanto, no nordeste, o grande destaque é para uma apicultura caracterizada pelas abelhas africanizadas, adaptadas as condições ambientais do semiárido nordestino. Atualmente, o Nordeste do Estado da Bahia se destaca com uma produção de 52% de toda a produção do estado (IBGE, 2013). Então, torna-se importante a caracterização com relação às propriedades físico-químicas, e estudar os parâmetros indicadores de qualidade, gerando subsídios para adotarmos programas de desenvolvimento da apicultura regional.

No Brasil, a caracterização da própolis é um desafio multidisciplinar que a comunidade científica tem enfrentado, tendo em vista, a variação de composição e o grande número de compostos bioativos (PEREIRA; SEIXAS; AQUINO NETO, 2002). Porém, vários tipos de própolis podem ser encontrado no Brasil e sua composição química e atividade biológica estão atualmente em estudo (SAWAYA; CUNHA; MARCUCCI, 2011).

Considerando-se que a procura pela própolis tem crescido nos últimos anos, principalmente pelo interesse da população para os chamados produtos naturais, o levantamento de dados que contribuam para o conhecimento de fatores que possam interferir com a qualidade do produto, são de suma importância (SOUZA et al., 2010). Diante do exposto, este trabalho visa avaliar as atividades antioxidante de própolis da Região Nordeste do Estado da Bahia.

A presente tese visa agregar valor a produtos naturais de grande relevância alimentícia, medicinal e comercial: o mel e a própolis, pela análise integrada de dados físico-químicos e biológicos. Visa analisar características físico-químicas, capacidade antioxidante de méis e própolis provenientes do semi-árido nordestino, mais especificamente da microrregião de Ribeira do Pombal, Bahia. No Brasil, devido à grande diversidade da flora apícola, torna-se necessária esta caracterização, visando à criação de padrões segundo os fatores edafoclimáticos e florísticos da região, estabelecendo critérios comparativos nas análises e controlando possíveis fraudes desse produto (CRANE, 1983).

2 OBJETIVO GERAL .

Avaliar as características físico-químicas, melissopalínológicas, microbiológicas de amostras de méis, aliado à investigação da capacidade antioxidante de amostras de própolis de *Apis mellifera* L. 1758, do Estado da Bahia, visando à obtenção de informações úteis para qualificar os méis e própolis e proporcionar ações para o desenvolvimento regional.

2.1 Objetivos específicos:

- Identificar tipos polínicos dos méis da região;
- Determinar as características físico-químicas de méis;
- Avaliar as características melissopalínológicas;
- Avaliar a qualidade microbiológica de amostras de méis de *Apis mellifera*;
- Avaliar a capacidade antioxidante de méis;
- Comparar métodos de extração de própolis;
- Avaliar a capacidade antioxidante dos extratos de própolis;
- Avaliar a quantidade de flavonóides e suas correlações

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os méis utilizados nas pesquisas foram produzidos na Região Nordeste do Estado da Bahia (Figura 1), nos municípios de Ribeira do Pombal, Tucano, Nova Soure, Ribeira do Amparo, Banzaê, Heliópolis, Euclides da Cunha, Jandaíra e Entre Rios.

Figura 1 - Mapa do Estado da Bahia com a divisão em regiões



Fonte: Mapas geográficos, 2013.

Todas as amostras de mel foram coletadas nos meses de janeiro a março de 2009 e de janeiro a março de 2011, período de maior produção apícola da Região Nordeste do Estado da Bahia (Figura 3 e Tabelas 3 e 4). As amostras foram armazenadas em embalagens plásticas, mantidas em temperatura ambiente. As análises de antioxidantes e conteúdo totais de fenois foram realizadas no Laboratório de Eletroquímica da Universidade Federal da Alagoas (UFAL). As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Abelhas (LAB) da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola S.A. (EBDA), utilizando as

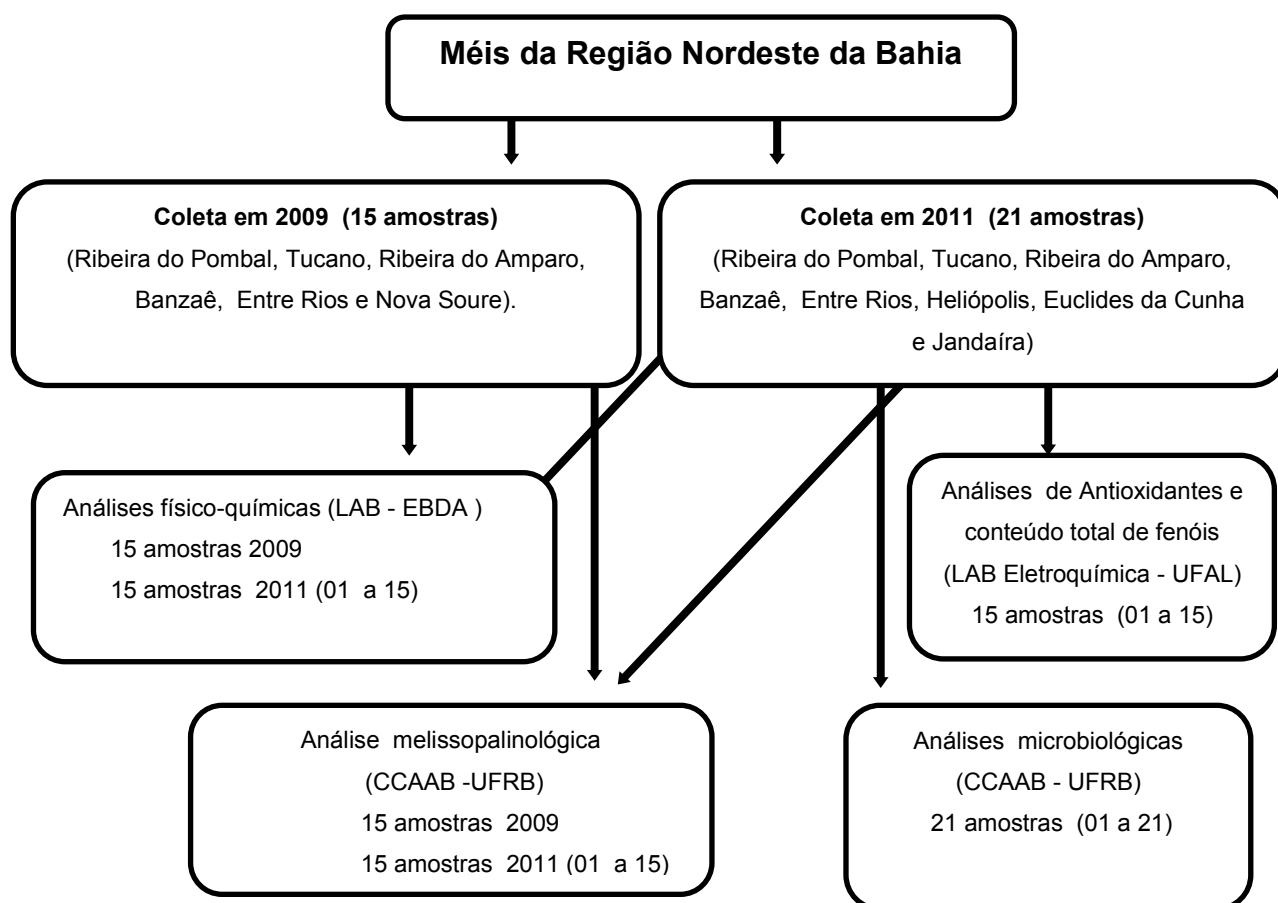
metodologias recomendadas pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento segundo a Instrução Normativa número 11, de 20 de outubro/2000 (BRASIL, 2000). Os parâmetros analisados foram: acidez, umidade, atividade diastásica, hidroximetilfurfural (HMF), minerais, açúcares redutores, sacarose aparente, acidez livre, sólidos insolúveis em água, pH e cor.

As análises microbiológicas e melissopalínológicas foram realizadas no Núcleo de Estudos dos Insetos (Insecta) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), em Cruz das Almas-BA (Figura 3). Utilizaram-se 21 amostras de méis de *Apis mellifera*, para análise microbiológica, coletadas de apicultores da Região Nordeste do Estado da Bahia (Tabela 4) e (Figura 2). Para a identificação dos tipos polínicos, foi utilizada a análise melissopalínológica. Utilizaram-se 30 amostras de mel (15 amostras colhidas em 2009) e 15 amostras colhidas em 2011 (amostras número 01 a 15) (Figura 3) e (Tabela 3). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Figura 2 - Distribuição espacial dos municípios de coletas de amostras de mel e de própolis de abelhas *Apis mellifera* da Região Nordeste do Estado da Bahia.



Figura 3 - Fluxograma das análises utilizadas



Fonte: Autor, 2013.

Tabela 3 - Distribuição das amostras de mel analisadas coletadas em 2009

Número da amostra	Localidade		Bioma (IBGE, 2013)
	Município	Fazenda/Povoado	
1	Ribeira do Pombal	Cova do Camarão	Caatinga
2	R. do Amparo	Faz. Bom Sucesso	Caatinga
3	R. do Amparo	Faz. C. Verde (Fervente)	Caatinga
4	Ribeira do Pombal	Ribeira do Pombal	Caatinga
5	Tucano	Tucano	Caatinga
6	Ribeira do Amparo	Faz. Lages	Caatinga
7	Ribeira do Pombal	Baixa do Umbuzeiro	Caatinga
8	Banzaê	Faz. Campo do Brito	Caatinga
9	Tucano	Faz. Muriti	Caatinga
10	Ribeira do Pombal	Faz. Conceição	Caatinga
11	Nova Soure	Faz. Pastorador	Caatinga
12	Nova Soure	Faz. Monte Alegre	Caatinga
13	Nova Soure	Faz. Vila do Estado/ Licurituba	Caatinga
14	Nova Soure	Faz. Coité	Caatinga
15	Entre Rios	Faz. Entre Rios	Mata Atlântica

Fonte: Autor, 2013.

Tabela 4 - Distribuição das amostras de mel analisadas coletadas em 2011

Número da amostra	Localidades		Bioma (IBGE 2013)
	Município	Fazenda/Povoado	
1	Ribeira do Pombal	Fazenda Bom Jardim	Caatinga
2	Ribeira do Amparo	Faz. Itaueira	Caatinga
3	Ribeira do Amparo	Faz. Caatinga	Caatinga
4	Ribeira do Pombal	Fazenda Marcação	Caatinga
5	Tucano	Fazenda Muriti	Caatinga
6	Heliópolis	Fazenda Ouricuri	Caatinga
7	R. Pombal	Fazenda Pinto 2	Caatinga
8	Banzaê	Apiário Santo Antônio	Caatinga
9	Tucano	Fazenda Muriti	Caatinga
10	Ribeira do Pombal	Fazenda Angico	Caatinga
11	Tucano	Fazenda Muriti	Caatinga
12	Euclides da Cunha	Faz. Baixa do Curral	Caatinga
13	Euclides da Cunha	Faz. Baixa do Curral	Caatinga
14	Euclides da Cunha	Faz. Sucupira do Galo	Caatinga
15	Entre Rios	Projeto Araticum	Mata Atlântica
16	Banzaê	Faz. Lagoa da Pedra	Caatinga
17	Entre Rios	Projeto Caboclo	Mata Atlântica
18	Entre Rios	Projeto Araticum	Mata Atlântica
19	Jandaíra	Fazenda Águas Claras	Mata Atlântica
20	Entre Rios	Projeto Caboclo	Mata Atlântica
21	Banzaê	Fazenda Muritiba	Caatinga

Fonte: Autor, 2013.

3.1 Análises melissopalínológicas

A melissopalínologia é um método tradicionalmente usado para determinar a origem botânica do mel (MAURIZIO, 1975; LOUVEAUX et al., 1978; COTTE et al., 2004; BARTH, 2004).

A preparação das amostras de mel foi baseada no espectro polínico proposto pela Louveaux et al., (1978). Dez gramas de mel foram dissolvidos em 20 mL de água destilada e centrifugou-se durante 5 min a 3.000 rpm. O sobrenadante foi descartado e adicionaram-se 2 mL de ácido acético glacial em tubos de ensaio,

deixando-se repousar durante 24 h, e novamente foi centrifugando o sobrenadante (IWAMA e MELHEM, 1979). A sequência da análise foi proposta por Erdtman (1952, 1960). Cerca de 2 mL da mistura de acetólise (9:1) ((CH₃CO)₂O):H₂SO₄) foram adicionadas em tubos e estes foram colocados num banho de água (100° C, 5 min), depois centrifugou-se (5 min, 3.000 rpm). Após este passo, 2 mL de água destilada e uma ou duas gotas de etanol foram adicionados, em seguida, o sedimento foi concentrado por centrifugação repetida. Aproximadamente, 2 mL de glicerina - água (1:1) foram adicionados ao sedimento, e, em seguida, realizada mais uma centrifugação.

O sedimento foi removido com o auxílio de uma espátula, incorporado em geleia de glicerina e depositado sobre uma lâmina de microscópio, para posterior análise quantitativa e qualitativa. O exame das lâminas foi realizado com o microscópio óptico a 400x, a fim de identificar os tipos de polínicos.

3.2 Avaliação das características físico-químicas

3.2.1 Análises físico-químicas

Os parâmetros correspondentes às características físico-químicas do produto são determinados conforme indicado a seguir (BRASIL, 2000), (Tabela 5).

Tabela 5 - Parâmetros e referências indicadas

DETERMINAÇÃO	REFERÊNCIA
Umidade (método refratométrico)	A.O.A.C. 16 th Edition, Rev. 4 th , 1998 - 969.38 B
Açúcares redutores	CAC/VOL. III, Supl. 2, 1990, 7.1
Sacarose aparente	CAC/Vol. III, Supl. 2, 1990, 7.2
Minerais (cinzas)	CAC/Vol. III, Supl. 2, 1990, 7.5
Sólidos insolúveis em água	CAC/Vol. III, Supl. 2, 1990, 7.4.
Hidroximetilfurfural (HMF)	A.O.A.C. 16 th Edition, Rev. 4 th , 1998 - 980.23
Atividade diastásica	CAC/Vol. III, Supl. 2, 1990, 7.7
Acidez	A.O.A.C. 16 th Edition, Rev. 4 th , 1998 - 962.19

Fonte: Autor, 2013.

3.2.1.1 Umidade

A umidade dos méis foi determinada com base no método refratométrico, segundo o método oficial nº 969.38B (AOAC, 1998) recomendado como metodologia oficial do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000). O princípio deste método consiste na determinação do índice de refração do mel a 20° C, que é convertido para o conteúdo de umidade através de uma tabela de referência a qual, por sua vez, fornece a concentração como uma função do índice de refração.

O refratômetro foi colocado em um local com iluminação adequada e efetuaram-se os ajustes necessários seguindo o procedimento operacional. Verificou-se o refratômetro determinando o índice de refração da água deionizada, colocando uma porção de água no refratômetro e efetuando a leitura do índice de refração e da temperatura.

Colocou-se uma porção do mel à temperatura ambiente no refratômetro com auxílio de um conta-gotas. Foi feita a leitura e anotada em planilha de dados. O teor de umidade foi calculado e convertido para o conteúdo de umidade através de uma tabela de referência a qual, por sua vez, fornece a concentração em função do índice de refração.

3.2.1.2 Açúcares redutores

Determinados segundo o método do CAC (1990) a partir da modificação do procedimento de Lane e Eynon, envolvendo a redução da solução de Fehling, modificada por Soxhlet, durante a titulação no ponto de ebulição com uma solução de açúcares redutores do mel, usando-se azul de metileno como indicador.

Soluções previamente preparadas

Solução “A” dissolver 69,28 g de sulfato de cobre penta-hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - MM = 249,71 g/mol) com água destilada até 1 litro de solução e armazenar por um dia antes de titular.

Solução “B” – dissolver 346 g de tartarato de sódio e potássio tetra-hidratado

($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$ - MM = 282,23 g/mol) e 100 g de hidróxido de sódio com água destilada até um litro de solução, em seguida filtrá-la com algodão de vidro.

Solução padrão para açúcar invertido - pesar 9,5 g de sacarose PA, adicionar 5 mL de ácido clorídrico concentrado e diluir com H_2O para 100 mL e armazenar a solução por 7 dias à temperatura de 12 a 15°C ou por 3 dias a temperatura de 20° a 25°C, e diluir para 1 L. A solução ácida de açúcar invertido permanece estável por vários meses. Pipetar 50 mL da solução ácida para um balão volumétrico de 250 mL. Imediatamente antes do uso, neutralizar a solução com hidróxido de sódio 1 M. Completar o volume com água destilada, para obter uma concentração de aproximadamente 2 g/L a ser usada na padronização.

Solução de azul de metileno – dissolver 2 g do corante em 1 L de água destilada.

Procedimento I (Padronização da solução Fehling modificada)

Pesaram-se 2 g de mel homogêneo, seguido de dissolução em água destilada para 200 mL (solução de mel). Houve diluição de 50 mL desta solução para 100 mL, usando água destilada.

Procedimento II (Titulação preliminar)

Pipetaram-se 5 mL da solução “A” em um erlenmeyer de 250 mL, adicionaram-se 5 mL da solução “B” em 10 mL de água destilada. Adicionaram-se com ajuda de uma bureta, 12 mL de solução diluída de mel e também algumas pedras de porcelana para evitar a ebulição tumultuada. Aqueceu-se a mistura até começar a ebulir, após este ponto, aguardou 2 min em ebulição moderada e adicionou-se 1 mL de azul de metileno (0,2%) e continuou a titular com solução diluída em mel. Parou a titulação assim que o indicador mudou de azul para marrom claro. Esta titulação deve ser rápida, não ultrapassando 3 min, após a adição do corante (volume obtido = x mL, ou seja, 15 mL mais o volume gasto na titulação).

Procedimento III (Determinação)

Pipetaram-se 5 mL da solução “A” em um erlenmeyer de 250 mL e adicionaram-se 5 mL da solução B. Adicionou um volume de água destilada (25 - x, sendo o “x” encontrado na titulação preliminar). Adicionou com a ajuda de uma bureta a solução diluída de mel até 1,5 mL antes da viragem, baseando-se na titulação preliminar para cálculo do volume. Aqueceu-se a mistura até começar a ebulição (adicionando as pedras de porcelana) e após 2 min. de ebulição moderada adicionou-se 1 mL de azul de metileno (0,2%) e continuou a titular com a solução diluída de mel. Parou a titulação assim que o indicador descoloriu.

Volume obtido = y mL

$$C = \frac{100 \times f \times A \times B}{b \times P \times y}$$

C= gramas de açúcares redutores em 100g de mel

f = g de açúcar invertido correspondente a 5 mL das soluções de Fehling “A” e “B”

A = volume da solução da amostra de mel

B = volume do balão da solução diluída da amostra

b = volume pipetado para o balão da solução diluída da amostra.

P = g da amostra.

y = mL da solução diluída da amostra.

3.2.1.3 Sacarose aparente

O conteúdo de sacarose aparente foi obtido por titulometria de acordo com o método do item 7.2 do CAC (1990), o qual determina a sacarose aparente após a inversão por hidrólise ácida, conforme recomendado pela Instrução Normativa do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000).

Soluções previamente preparadas

Solução “A” dissolver 69,28 g de sulfato de cobre penta-hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – MM = 249,71 g/mol) com água destilada até 1 litro de solução e armazenar por um dia antes de titular.

Solução “B” – dissolver 346 g de tartarato de sódio e potássio tetra-hidratado ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - MM = 282,23 g/mol) e 100 g de hidróxido de sódio com água destilada até um litro de solução em seguida filtrá-la com algodão de vidro.

Pesaram-se 2 g de mel homogêneo e dissolveu-se em água destilada para 200 mL. Pipetaram-se 50 mL desta solução de mel para um béquer. Adicionaram-se 25 mL de água destilada, com aquecimento em banho-maria a 65 °C durante aproximadamente 20 minutos.

Removeu-se o béquer do banho-maria e adicionaram-se 20 mL de ácido clorídrico (HCl) 50%. A solução foi resfriada naturalmente até atingir a temperatura aproximada de 20 °C, e neutralizada com hidróxido de sódio até pH 7,00 usando o pHmetro como indicador. Depois de neutralizada e resfriada, foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL, completando o seu volume com água destilada.

Procedimento II – Titulação Preliminar

Pipetaram-se 5 mL da solução “A” em um erlenmeyer, adicionaram-se 5 mL da solução “B” em 7 mL de água destilada.

Adicionaram-se 15 mL de solução diluída de mel e também algumas pedras de porcelana para evitar a ebulição tumultuada. A mistura foi aquecida até ebulição, após este ponto, aguardou-se por 2 min em ebulição moderada e adicionou-se 1 mL de azul de metileno (0,2%). A titulação continuou com a solução diluída em mel, e foi interrompida assim que o indicador descoloriu.

Procedimento III – Determinação

Pipetaram-se 5 mL da solução “A” em um erlenmeyer e adicionaram-se 5 mL da solução “B”. Adicionou-se o volume de água destilada encontrado na titulação

preliminar. Colocou-se a solução diluída de mel até 1,5 mL antes da viragem, baseando-se na titulação preliminar para o cálculo do volume.

A mistura foi aquecida até começar a ebulição, após 2 minutos de ebulição moderada adicionaram-se 2 mL de azul de metileno (0,2%). A titulação continuou com a solução diluída de mel e foi interrompida assim que o indicador descoloriu. Os resultados foram anotados na planilha de dados.

3.2.1.4 Minerais (cinzas)

A determinação foi realizada por calcinação, colocando-se 5 gramas de amostras de mel em um cadinho num forno mufla com aquecimento a 600 °C durante 6 h. A amostra foi aquecida em estufa, aumentando a temperatura até atingir a completa secagem da mesma.

As medições de cinzas foram feitas em triplicata e a média foi expressa em g% (CAC, 1990), conforme recomendado pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000) por meio do qual é possível se determinar algumas regularidades no mel, como, por exemplo, contaminação provocada pela não decantação e/ou filtração no final do processo de extração do mel.

3.2.1.5 Sólidos insolúveis em água

Para o ensaio sólidos insolúveis foi utilizada gravimetria. Dilui-se o mel com água destilada à temperatura de 80°C e transfere-se para um cadinho de vidro tarado (poro 15.40 µm), seguindo o método CAC (1990), de acordo com a recomendação do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000).

Procedimentos

Pesaram-se 10 g da amostra de mel em um béquer de 100 mL. Diluiu-se a amostra em uma quantidade mínima de água a aproximadamente 80 °C. A amostra diluída foi transferida para um cadinho de vidro previamente tarado. Após este procedimento, lavou-se a amostra em água destilada para que esta ficasse livre dos açúcares (filtrou-se com no mínimo 1 litro de água a 80°C). Foi colocado o cadinho

em uma estufa a 135°C; por aproximadamente uma hora. Esperou-se esfriar para pesagem subsequente.

3.2.1.6 Hidroximetilfurfural (HMF)

É determinado pelo método espectrofotométrico UV (AOAC, 1998; método oficial 980.23), recomendado pela Instrução Normativa do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000).

O método quantitativo consiste na verificação do conteúdo de HMF, utilizando-se método espectrofotométrico a 284 e 336 nm. O limite de quantificação é aproximadamente 5 mg/100 g.

Para a quantificação do teor de HMF foram preparados os seguintes reagentes:

- Solução Carrez 1: 15 g de ferrocianeto de potássio ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) em 100 mL de H_2O .
- Solução Carrez 2: 30 g de acetato de zinco ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) em 100 mL de H_2O .
- Solução de bissulfito de sódio ($NaHSO_3$) a 0,2%.

Pesaram-se 5 g de mel, adicionaram-se 25 mL de água destilada e transferiu-se para um balão volumétrico de 50 mL. Foi adicionado 0,5 mL da solução de Carrez 1 ao balão e misturou-se, adicionou-se 0,5 mL de solução de Carrez 2 e misturou-se. O volume do balão foi completado com água destilada e a solução foi homogeneizada.

A amostra foi filtrada com papel filtro e descartaram-se os primeiros 10 mL. Pipetaram-se 5 mL do filtrado em dois tubos de ensaio (18x180 mm), onde no

primeiro tubo foram adicionados 5 mL de água e no segundo 5 mL de bissulfito de sódio (NaHSO₃).

Agitou-se em vórtex para logo em seguida medir a absorvância da amostra utilizando o espectrofotômetro nos comprimentos de onda 284 (sem NaHSO₃) e 336 nm (com NaHSO₃), com leitura no intervalo de tempo até uma hora após o preparo da solução (utilizando o NaHSO₃) para calibração e em seguida leu o outro tubo.

As leituras executadas foram feitas no espectrofotômetro Fenton 700S, e o cálculo do conteúdo de 5-hidroximetilfurfural foi feito de acordo com a equação: $MgHMF/100 \text{ g de mel} = (A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 5 / (P) \text{ peso da amostra (g)}$, onde A₂₈₄ é a leitura da absorvância a 284 nm, A₃₃₆ é a leitura da absorvância a 336 nm e P é a massa da amostra em gramas.

Sendo

$$\text{Fator} = 14,97 = (126/16,830) (1000/10) (100/5)$$

Em que:

126 g/mol = Massa molecular do HMF;

16,830 = Absortividade molecular do HMF à 284 nm;

1000 = mg/g

10 = centilitros L⁻¹;

100 = porcentagem de HMF

3.2.1.7 Atividade diastásica

Foi determinada utilizando o método (CAC, 1990), em que uma solução tamponada de amido solúvel e mel são incubados em banho-maria a 40° C. Depois disso, uma alíquota desta mistura foi removida a intervalos de 5 minutos e a absorção da amostra foi a 660 nm em espectrofotômetro.

O valor da atividade diastásica foi calculado utilizando o tempo necessário para a absorção atingir 0,235 nm, e os resultados foram expressos em graus Gothe, quantidade em (mL) de amido a 1% hidrolisado por uma enzima, em 1 g de mel. Este método é recomendado pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000).

Pesaram-se 10 g de mel em um béquer de 50 mL. Adicionaram-se 5 mL da solução tampão acetato pH=5,3 ($1,59 \text{ mol L}^{-1}$) e 20 mL de água destilada.

A amostra foi dissolvida a frio com agitação e transferida para um balão volumétrico de 50 mL contendo 3 mL da solução de cloreto de sódio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, completou-se o balão com água destilada. Foram pipetados 10 mL desta solução para um tubo de ensaio e colocou-se em banho de água a $40 \pm 2^\circ\text{C}$, junto com o frasco de solução de amido.

Aos 15 minutos, mantendo sempre no banho de água, pipetaram-se 5 mL da solução de amido para a solução de mel, misturou-se e ativou-se o cronômetro. Em intervalos de 5 minutos removeram-se alíquotas de 1 mL para um erlenmeyer e adicionaram-se rapidamente 10 mL da solução de iodo 0,7 mM.

Determinou-se a absorvância à 660 nm e anotou-se o tempo no momento da leitura da absorvância. Continuou-se tomando alíquotas de 1 mL em intervalos de 5 a 7 minutos, até obter um valor de absorvância menor que 0,235 nm.

3.2.1.8 Acidez livre

A acidez livre foi determinada por titulação de acordo com o método oficial nº 962.19 da (AOAC, 1998), que se baseia na titulação da amostra, com solução de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio, até atingir o pH 8,5, cujo método é recomendado pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (BRASIL, 2000).

O método é baseado numa titulação simples, utilizando o pHmetro para acompanhar a medida do pH ou uma solução indicadora de fenolftaleína.

Procedimento

Foram diluídos 10 g da amostra de mel em 75 mL de água livre de CO₂. O pHmetro foi calibrado com as soluções tampão pH 4,00 e 7,00.

Titulou-se a amostra diluída com hidróxido de sódio padronizado (NaOH) 0,05 mol L⁻¹ num fluxo aproximado de 5 mL por minuto. A titulação foi interrompida quando a solução chegou a valores de pH de 8,5.

Fórmula para o cálculo da acidez livre (Al)

$$Al = \frac{\text{mL da NaOH } 0,05 \text{ mol L}^{-1} \text{ utilizados na bureta} - \text{mL branco}}{\text{Massa da amostra}} \times 50$$

Massa da amostra








3.2.1.9 pH

A concentração de íons H⁺ é medida com o uso de um pHmetro. O pH pode influenciar na formação de outros componentes do mel, como na velocidade de produção do HMF. O pH foi medido com um eletrodo de vidro de pH combinado ligado a pHmetro básico, em uma solução preparada com 10 g de mel, em 75 mL de água destilada. O pHmetro foi calibrado com as soluções tampão pH 4,00 e 7,00. Os experimentos foram feitos em triplicata. O eletrodo de pH foi emergido na solução, aguardou-se a estabilização para efetuar a leitura.

3.2.1.10 Cor

A análise de cor foi realizada utilizando um colorímetro modelo HI 83221, Hanna, que inclui um fotómetro com leituras diretas em escala mm Pfund, e utilizando o glicerol para a calibração. Foi determinado medindo-se a transmissão da luz (Figura 4).

Figura 4 - Padrão de cores para mel com referências

Padrão de cores para mel	Escal Pfund (mm)	Mel referência
Branco d'água	0 a 8	
Extra-branco	8,1 a 17	
Branco	17,1 a 34	
Extra âmbar claro	34,1 a 50	
Âmbar claro	50,1 a 85	
Âmbar	85,1 a 114	
Âmbar escuro	Acima de 114	

Fonte: Autor, 2013 – Adaptado de Carvalho et al. 2005

3.3 Análise microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas seguindo o método da American Public Health Association (APHA) descrito nas normas internacionais (DOWNES e ITO, 2001) para cada grupo de microrganismo. Foi realizada a contagem padrão de bolores e leveduras, aeróbios mesófilos e psicrótróficos, e quantificada a presença de coliformes totais e termotolerantes nas amostras de méis.

Para a realização das análises, uma alíquota de 25,0 g de cada amostra de mel foi utilizada para a preparação da primeira diluição (10^{-1}) em 225,0 mL de água peptonada tamponada a 0,1%, e as preparações das diluições decimais subsequentes foram realizadas em tubos contendo 9,0 mL do mesmo diluente para obtenção das concentrações 10^{-2} e 10^{-3} .

3.3.1 Bolores e leveduras

Para contagem padrão dos bolores e leveduras, 0,1 mL de cada diluição foi plaqueada na superfície do meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose. Com o auxílio

de uma alça de Drigalski, realizou-se o espalhamento do inóculo por toda a superfície do meio. A análise foi realizada em duplicata. A incubação foi em BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 25 °C, durante cinco dias. Após esse período, procedeu-se a contagem para determinar o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC.g⁻¹).

3.3.2 Aeróbios mesófilos e psicrotróficos

A semeadura foi feita em duplicata. Para isso, alíquotas de 1 mL das diluições foram plaqueadas em profundidade em meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas inoculadas foram incubadas a 35 °C por 48 h (aeróbios mesófilos) e 7 °C por 10 dias (aeróbios psicrotróficos). Após esses períodos, realizou-se a contagem para determinar o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC.g⁻¹).

3.3.3 Coliformes totais e termotolerantes

Na avaliação dos coliformes totais e termotolerantes, utilizou-se a técnica do Número Mais Provável (NMP), também conhecida como método de tubos múltiplos, sendo inicialmente realizado o teste presuntivo utilizando o Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) para incubação das diluições, utilizando-se três tubos contendo 10 mL de LST com tubos de Durham invertidos para cada diluição, os quais permaneceram em estufa para demanda biológica de oxigênio (BOD) a 35 °C por 48 h. A presença de coliformes foi observada pelo crescimento com produção de gás no interior dos tubos de Durham.

Para os tubos da série LST que apresentaram resultados positivos, foi realizado o teste confirmatório utilizando o Caldo Verde Brilhante Bile (VB) para coliformes totais, incubados a 35°C por 24-48 h e o caldo Escherichia coli (EC) para coliformes termotolerantes, que foram mantidos a 45 °C em banho-maria, sob agitação durante 24 h. O Número Mais Provável (NMP.g⁻¹) de coliformes totais e termotolerantes foi determinado por meio da tabela de Hoskins.

3.4 Capacidade Antioxidante das amostras de méis de *Apis mellifera*

3.4.1 Determinação do conteúdo total de fenóis

3.4.1.1 Método Folin - Ciocalteu

A determinação do conteúdo total de fenóis das 15 amostras de méis foi realizada no laboratório de Eletroquímica da UFAL. Realizado por uma modificação do método, reagente de Folin-Ciocalteu (RFC), como descrito por CICCIO et al. (2009), com algumas modificações.

Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico (mg de ácido gálico/100 g de mel). As amostras de méis foram diluídas em água Milli Q (25 mg mL⁻¹), resultando em: uma amostra de cada solução de mel de 120 µL com 180 µL de água Milli Q ou 300 µL de água Milli Q (branco). Em seguida, cada amostra foi adicionada em tubos de ensaio 300 µL de RFC, com agitação em um vórtex. Após 2 minutos, 2,4 mL de bicarbonato de sódio (Na₂CO₃) saturado (5%) foram adicionados à mistura. Os tubos foram mantidos no escuro em banho-maria a uma temperatura de 40 °C por 20 minutos, em seguida uma alíquota de 1 mL da amostra foi colocada em cubeta de quartzo (capacidade = 1 mL; caminho óptico = 1 cm) e medida a absorvância a 760 nm usando um espectrofotômetro (UV-vis modelo Mutispec-1501 Shimadzu, Japão).

A concentração de compostos fenólicos foi estimada usando uma curva de calibração traçada com ácido gálico (GA) em metanol (0,10 × 10⁻⁴-17,5 10⁻⁴ mol L⁻¹), como uma referência de polifenóis (n = 3). Os resultados são expressos em mg de equivalentes GA / extrato (mg GAE g⁻¹). O mesmo procedimento foi realizado utilizando 120 µL de metanol como um controle negativo.

3.4.2 Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH*

O ensaio com DPPH para a determinação da capacidade antioxidante das 15 amostras de méis foi feita de acordo com a metodologia de Saánchez-Moreno et al. (1999), com algumas modificações. Na presença de um antioxidante, a coloração

púrpura do DPPH decresce, e a mudança de absorvância pode ser lida espectrofotometricamente.

Assim, 0,30 mL de solução de mel (25 mg mL⁻¹) foi misturado com 2,7 mL de solução de DPPH radical (40 ug mL⁻¹ em metanol) em 3 mL em uma cubeta de quartzo. A mistura foi homogeneizada e armazenada no escuro antes da análise. Os valores de absorção em 515 nm DPPH foram registados em intervalos de 5 min, durante 50 min. A percentagem de atividade de DPPH radical-seqüestradora (% RSA - DPPH) de cada extrato foi calculado como segue: % de RSA = (1-AC / DC) x 100, em que AC representa a absorvância da solução de extrato de quando foi adicionada a uma determinada concentração de 30 min, e AD é a absorvância da solução de DPPH.

Todas as determinações foram realizadas em triplicata. Também foi determinada a capacidade antioxidante a partir da quantidade necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH* em 50%, parâmetro este conhecido por IC₅₀. O IC₅₀ foi calculado graficamente, utilizando uma curva de calibração na porção linear, traçando a concentração da amostra *versus* o efeito correspondente de varrimento (I%, a percentagem de inibição), durante 30 min. A percentagem de inibição (I%) foi calculada usando a equação: % I = [(Abs₀ - ABS₁) / Abs₀] x 100, onde Abs₀ é a absorvância do controle e ABS₁ a absorvância na presença do composto de teste.

Foram determinados os percentuais RSA%, conforme a equação:

$$\% \text{ RSA} = [\text{DPPH}]_{T=t} / [\text{DPPH}]_{T=0} \times 100$$

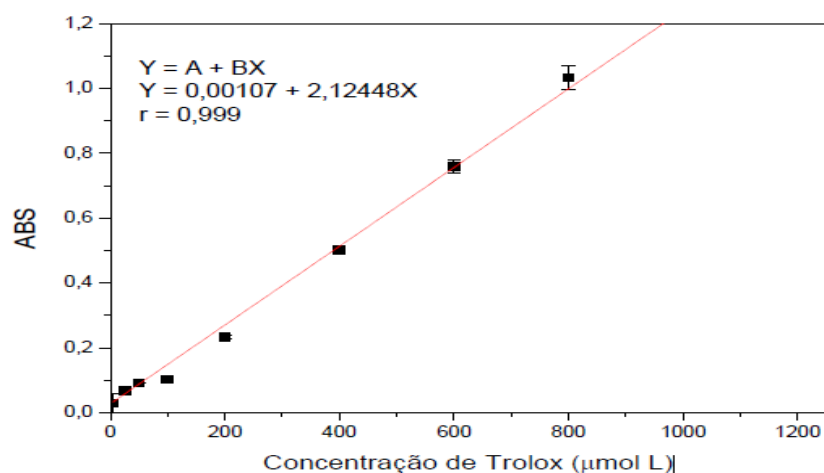
Em que, [DPPH]_{T= t} é a concentração de DPPH no tempo t após a reação com o extrato e como os padrões e [DPPH]_{T=0} é a concentração inicial de DPPH, ou seja, 40 µg mL⁻¹ (HUANG et al., 2005).

3.4.3 Capacidade antioxidante pelo método de redução de ferro - FRAP.

A determinação da atividade antioxidante através da redução de ferro (FRAP) foi realizada pelo método de Larrauri et al. (1997) e Rufino et al. (2006), com algumas modificações. O método baseou-se na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzirem em meio ácido pH (3,6), o complexo Fe^{3+} /(2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) TPTZ, para formar Fe^{2+} , coloração azul, com absorção de 595 nm. O reagente FRAP foi preparado somente no momento da análise. Resumidamente, o reagente FRAP foi preparado no momento da análise com uma mistura de 25 mL de tampão acetato ($0,30 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,6), 2,5 mL da solução TPTZ (10 mmol L^{-1} em HCl 40 mmol L^{-1}), com a adição de 2,5 mL da solução FeCl_3 (20 mmol L^{-1}).

Alíquotas ($90 \mu\text{L}$) de soluções de mel (25 mg mL^{-1}) foram misturadas com $270 \mu\text{L}$ de água destilada e $2,7 \text{ mL}$ do reagente FRAP e incubadas a 37°C durante 30 min. As leituras de absorvância foram realizadas em um espectrofotômetro a 595 nm. Utilizou-se o reagente FRAP como branco para calibrar o equipamento. A curva de calibração (Figura 5) foi preparada com o padrão Trolox, a partir de alíquotas de $90 \mu\text{L}$ retiradas das soluções preparadas na faixa de $5\text{-}1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ e os resultados foram expressos em equivalentes trolox $\mu\text{mol L}^{-1}$ /100 g de mel.

Figura 5 - Curva de calibração de FRAP, medida em absorvância a $\lambda = 595 \text{ nm}$. Experimento realizado em triplicata



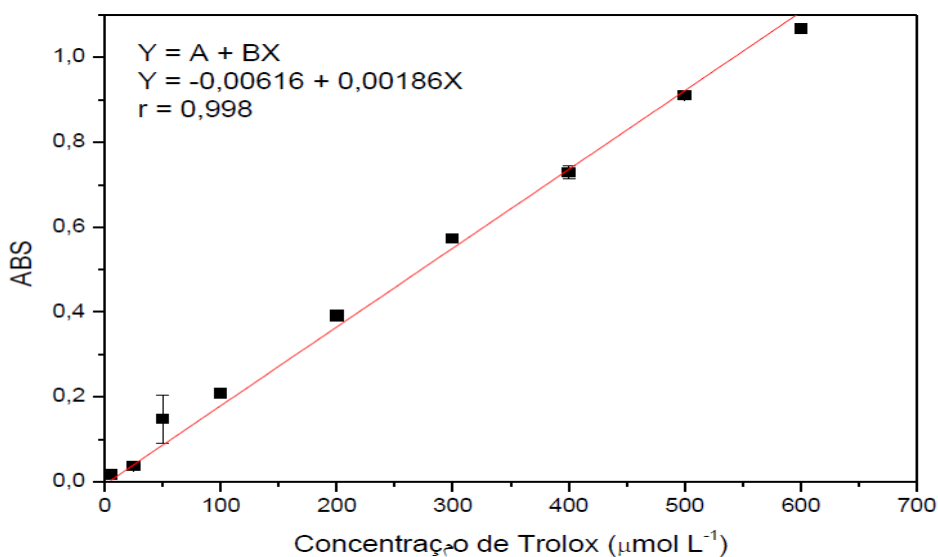
Fonte: Autor, 2013.

3.4.4 Capacidade antioxidante pelo método de redução do cobre - CUPRAC

Estes ensaios baseiam-se na redução de Cu (II) de Cu (I) através da ação combinada de todos os antioxidantes (agentes de redução) em uma amostra. A curva de calibração é mostrada na Figura 6. Em tubos de ensaio, colocou-se 1 mL de CuCl_2 solução aquosa ($1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), 1 mL de neocuproína (solução etanólica) ($7,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), 1 mL de tampão de NH_4Ac ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 7,0$) e homogeneizou-se em vortex. Adicionou-se, então, 0,5 mL da amostra de mel (25 mg mL^{-1}) e 0,6 mL de H_2O , para formar o volume final de 4,10 mL. Os tubos foram fechados, mantidos à temperatura ambiente e, após 1 hora, foi feita a leitura em espectrofotômetro UV-vis, a 450 nm. Foi realizada a curva de calibração com Trolox ($5\text{-}600 \mu\text{mol L}^{-1}$) (APAK, GÜÇLÜ et al., 2004). As soluções das amostras de méis foram preparadas em metanol a uma concentração de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados foram expressos em μmol equivalentes Trolox/100 g de mel.

A capacidade antioxidante total foi expressa em unidades Trolox mmol g^{-1} de extrato.

Figura 6 - Curva de calibração CUPRAC. Medida em absorvância a $\lambda = 450 \text{ nm}$
Experimento realizado em triplicata



Fonte: Autor, 2013.

3.5 Capacidade antioxidante das amostras de própolis

As amostras de própolis foram colhidas de colmeias de *Apis mellifera* L., de apicultores da Região Nordeste de Estado da Bahia, foram utilizados coletores inteligentes e armazenados em potes devidamente etiquetados (Tabela 6).

Tabela 6 - Distribuição das amostras (código) de própolis de abelhas *Apis mellifera* da Região Nordeste do Estado da Bahia, coletadas analisadas.

Localidade	Coordenadas			Código da amostra	Bioma/flora principal (IBGE, 2013)/ (Almeida, 2007)
	Latitude	Longitude	Altitude		
Ribeira do Pombal	10° 91' S	38°41' W	245,50	03	Caatinga/ <i>Piptadenia moniliformes</i> Benth; <i>Calliandra depauperata</i> Benth; <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Marth. ex Benth.
Jandaíra	11° 62' S	37°72' W	490,00	05	Mata Atlântica/ <i>Eucaliptus</i> sp.
Tucano/pé de Serra	11° 19' S	38°70' W	414,45	07	Caatinga/ <i>Piptadenia moniliformes</i> Benth; <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Marth. ex Benth; <i>Croton glandulosus</i> L.(Velame preto).
Tucano/Rio do Peixe	11° 10' S	38°92' W	168,59	09	Caatinga/ <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart; <i>Caesalpinia Bracteosa</i> Tul (Pau de rato); <i>Croton glandulosus</i> L.(Velame preto).

Fonte: Autor, 2013.

3.5.1 Extração

Os extratos da própolis foram realizados por tintura, Park et al. (1998) com modificações e extração em aparelho de Soxhlet. Utilizaram-se 4 gramas da própolis bruta triturada e homogeneizada em erlenmeyers. Para o preparo das tinturas, foram adicionados 50 mL de álcool etílico a 70% para as tintura etanólicas e 50 mL de álcool metílico a 70% para as metanólicas. A extração foi realizada em banho de água termostaticada (BUCHI, Heating B-491), a mistura foi incubada por 30 minutos

à temperatura de 30 ou 60 °C, agitando-se a cada 5 minutos. Um rota-evaporador foi utilizado para a eliminação do solvente à temperatura de 50 °C em bomba de vácuo. Os extratos foram acondicionados em recipientes de vidro âmbar para a realização posterior dos testes.

A preparação dos extratos em aparelho Soxhlet foi realizada de acordo com a metodologia de Rigi (2008) com modificações. Utilizaram-se 4 gramas de própolis e a extração com metanol foi feita em aparelho soxhlet por um período de 6 horas. Os extratos foram filtrados após o resfriamento para a retirada da cera presente nas amostras. Em seguida, evaporou-se o solvente em rotaevaporador (BUCHI, R-210), e finalmente os extratos foram acondicionados em vidros âmbar, para os devidos testes.

Foram produzidos 21 extratos (8 etanólicos e 8 metanólicos) para as amostras de própolis e cada um dos extratos recebeu uma codificação (Tabela 7).

Tabela 7 - Lista dos códigos de identificação dos extratos produzidos de amostras de própolis de *Apis mellifera* da Região Nordeste do Estado da Bahia.

Ordem	Tipos de Extração	Codificação
1	Extração por tintura com metanol, amostra de nº 7, à temperatura de 30 °C	TM7.30C
2	Extração por tintura com metanol, amostra de nº 7, à temperatura de 60 °C	TM7.60C
3	Extração por tintura com etanol, amostra de nº 7, à temperatura de 30 °C	TET7.30C
4	Extração por tintura com etanol, amostra de nº 7, à temperatura de 60 °C	TET7.60C
5	Extração por Soxhlet, amostra de nº 7	SM7
6	Extração por tintura com metanol, amostra de nº 5, à temperatura de 30 °C	TM5.30C
7	Extração por tintura com metanol, amostra de nº 5, à temperatura de 60 °C	TM5.60C
8	Extração por tintura com etanol, amostra de nº 5, à temperatura de 30 °C	TET5.30C
9	Extração por tintura com etanol, amostra de nº 5, à temperatura de 60 °C	TET5.60C
10	Extração por soxlhet da amostra de nº 5	SM5
11	Extração por tintura com metanol, amostra de nº 9, à temperatura de 30 °C	TM9.30C
12	Extração por tintura com metanol, amostra de nº 9, à temperatura de 60 °C	TM9.60C
13	Extração por tintura com etanol, amostra de nº 9, à temperatura de 30 °C	TET9.30C
14	Extração por tintura com etanol, amostra de nº 9, à temperatura de 60 °C	TET9.60C
15	Extração por Soxhlet da amostra de nº 9	SM9
16	Extração por tintura com metanol, amostra de nº 7, à temperatura de 30 °C	TM3.30C
17	Extração por tintura com metanol, amostra de nº 3, à temperatura de 60 °C	TM3.60C
18	Extração por tintura com etanol, amostra de nº 3, à temperatura de 30 °C	TET3.30C
19	Extração por tintura com etanol, amostra de nº 3, à temperatura de 60 °C	TET3.60C
20	Extração por Soxhlet, amostra de nº 3	SM3
21	Própolis usada como referência – extração por tintura	Própolis

Fonte: Autor, 2013.

3.5.2 Determinação do conteúdo total de fenóis

A análise quantitativa e qualitativa dos fenóis do extrato etanólico de própolis (EEP) foi realizada por determinação de fenóis totais por espectrofotometria, conforme descrito para as amostras de méis.

Os extratos de Soxhlet e de tintura foram diluídos em metanol ($25 \mu\text{g mL}^{-1}$). Para o método, adicionou-se aos tubos a amostra, solvente, RFC e carbonato de sódio a 5% em quantidades adequadas totalizando um volume de 3 mL. Os tubos foram postos em banho-maria a 40°C no escuro por 20 minutos. Em seguida, o produto reacional foi colocado em uma cubeta de quartzo (capacidade = 3 mL; caminho óptico = 1 cm) e medida a absorvância a 760 nm, utilizando espectrofotômetro (UV-vis modelo Mutispec- 1501 Shimadzu, Japão).

3.5.3 Antioxidantes

A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos de DPPH e FRAP, conforme já descrito.

3.5.3.1 Atividade Antioxidante frente ao DPPH

Os extratos preparados em aparelho Soxhlet e as tinturas foram diluídos em metanol ($25 \mu\text{g mL}^{-1}$). Para o método, adicionou-se aos tubos a amostra, solvente, RFC e carbonato de sódio a 5% em quantidades adequadas, totalizando um volume de 3 mL. Os tubos foram postos em banho-maria a 40°C no escuro por 20 minutos. Em seguida o produto reacional foi colocado em uma cubeta de quartzo (capacidade = 3 mL; caminho óptico = 1cm) e medida a absorvância a 760 nm.

3.5.3.2 Atividade Antioxidante de Redução do Ferro - MÉTODO FRAP

Adicionaram-se 90 μL de cada solução dos extratos ($25 \mu\text{g mL}^{-1}$) em cada tubo de ensaio, acrescentaram-se 270 μL do solvente e misturou-se com 2,7 mL do reagente FRAP. Os tubos foram homogeneizados em agitador de soluções (AP-56) e postos em banho-maria a 37°C por 30 minutos.

3.5.4 Conteúdo total de flavonóides (TFC)

Para a análise quantitativa dos flavonóides do EEP, utilizou-se o método do cloreto de alumínio (AlCl_3) descrito por Woisky (1996) com algumas modificações feitas por Ahn et al. (2007). As análises foram feitas pelo método espectrofotométrico, expressos em quercentina para leitura em 420 nm, de acordo com o método descrito por Woisky (1996) com modificações.

Resumidamente, a 1,5 mL da solução do extrato de própolis, foram adicionados 1,5 mL de solução metanólica de AlCl_3 2%. Homogeneizou-se e deixou-se reagir à temperatura ambiente no escuro. Após uma hora, a absorvância foi medida a 420 nm.

3.6 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram registrados como média \pm desvio padrão. A análise de variância e testes de diferença significativa foi realizada para identificar as diferenças entre as médias, enquanto o teste de correlação de Pearson foi realizado para determinar as correlações entre as médias, valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. Foi utilizada a análise trilha multivariada. A análise estatística foi realizada utilizando SAEG 9.1.39

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão descritos em tabelas e figuras, conforme mostrado a seguir: análise melissopalínológica (Tabelas 8 e 9), características físico-químicas de méis (Tabela 10), análise microbiológica (Tabela 14), conteúdo total de fenóis e capacidade antioxidante (DPPH, FRAP e CUPRAC) para méis (Tabela 15), resultados para fenóis totais de própolis (Figura 17), resultados para antioxidantes da própolis (Figuras 18 e 19), resultados para teor totais de flavonóides (Figura 20), resultados estatísticos para méis (Tabelas 17, 18, 19 e Figuras 15 e 16), resultados estatísticos para amostras de própolis (Tabelas 22 e 23).

4.1 Identificação da origem floral das amostras de mel

A análise melissopalínológica é muito importante para a diferenciação do mel produzido em diferentes áreas geográficas e climáticas, afim de definir a sua origem botânica e suas propriedades. Esta análise consiste em identificar os tipos polínicos encontrados nas amostras de méis, para reconhecer as espécies vegetais que contribuíram na produção do mel, assim como a vegetação no raio de ação das abelhas (BARTH, 2005). Então o conhecimento de pólen de produtos apícolas pode criar maior valor de mercado: grãos de pólen são importantes indicadores de sua situação geográfica e origem botânica e pode, portanto, atestar a qualidade do produto (SANTOS et al., 2006).

As Tabelas 8 e 9 listam a percentagem de tipos polínicos de diferentes espécies de plantas nas amostras de mel. As características das análises melissopalínológicas confirmaram a origem floral das amostras. Entre as 30 amostras, 28 foram classificadas como mel polifloral constituído por uma mistura de pólenes de diferentes espécies de plantas. Enquanto as amostras n° 8 (*Pityrocarpa moniliformes* (Fabaceae)) e n° 15 (*Eucalyptus* sp. (Mirtaceae)) (Tabela 9), foram monoflorais. Estevinho et al. (2012) afirmam que o mel monofloral refere-se à presença de um único tipo de pólen em quantidades acima de 45% do total de pólen no espectro. No entanto, este não é o único parâmetro. No nosso trabalho, o mel

monofloral foi confirmado observando a frequência elevada (> 45%) dos tipos polínicos associados com a identificação do tipo de pólen da espécie de planta.

Tabela 8 - Caracterização melissopalínológica das amostras de méis de *Apis mellifera* analisadas, 2009.

Amostra	Tipo de mel	Tipo polínico (com maior frequência)	Porcentagem e classe	Quantidade de tipos	Localidade
1	Polifloral	<i>Myrcia 1; tipo salvia</i>	(41,64PA); (9,75PII)	17	R. Pombal
2	Polifloral	<i>Croton 1; Cróton 2; Myrcia 1;</i>	(23,55PA);(19,66 PA); 16,56PA);	12	R. do Amparo
3	Polifloral	<i>Myrcia 1; Croton 2; Pityrocarpa moniliformes(quipé)</i>	(23,92PA);(17,14 PA);(14,17PII)	23	R. do Amparo
4	Polifloral	<i>Mimosa tenuiflora, Tipo Croton 2, Pityrocarpa moniliformes(quipé)</i>	(23,92PA);;(17,14PA); (14,17 PII)	12	R. Pombal
5	Polifloral	<i>Hyptis multiflora, Tipo Croton 2, Pityrocarpa moniliformes(quipé)</i>	(28,32PA);(19,47PA); (14,16PII)	11	Tucano
6	Polifloral	<i>Tipo Myrcia 1, Mimosa tenuiflora, Tipo Croton 2</i>	(28,49PA); (25,74PA);(12,71PII)	18	R. do Amparo
7	Polifloral	<i>Tipo Myrcia 1, Mimosa tenuiflora</i>	(75,48PD);(23,17PA)	5	R. Pombal
8	Polifloral	<i>Tipo Myrcia 1, Tipo Myrcia 2</i>	(59,31PD);(19,20PA)	8	Banzaê
9	Polifloral	<i>Tipo Myrcia 1; Gliricidia sepium</i>	(83,83PD);(14,29PII)	3	Tucano
10	Polifloral	<i>Tipo Myrcia 1, Tipo Myrcia 2</i>	(71,23PD);(26,03PA)	3	R. Pombal
11	Polifloral	<i>Tipo Myrcia 1, Tipo Myrcia 2</i>	(63,55PD); (7,06PII)	12	Nova Soure
12	Polifloral	<i>Tipo Myrcia, Mimosa tenuiflora</i>	(54,38PD);(21,60PA)	9	Nova Soure
13	Polifloral	<i>Mimosa tenuiflora, Tipo Myrcia 1</i>	(40,11PA); (39,05PA)	8	Nova Soure
14	Polifloral	<i>Tipo Hyptis, Mimosa tenuiflora</i>	(29,38PA); (27,60PA)	12	Nova Soure
15	Polifloral	<i>Tipo Myrcia 1, Eucalyptus sp., Tipo Myrcia2</i>	(38,49PA);(20,67PA);(20,34PA)	6	Entre Rios

*PD, Pólen dominante (> 45% do total de grãos); **PA, pólen acessório (16-45%); *** PII, pólen isolado importante (3-15%).

Fonte: Autor, 2013.

Tabela 9 - Caracterização melissopalínológica das amostras de méis de *Apis mellifera* analisadas, 2011.

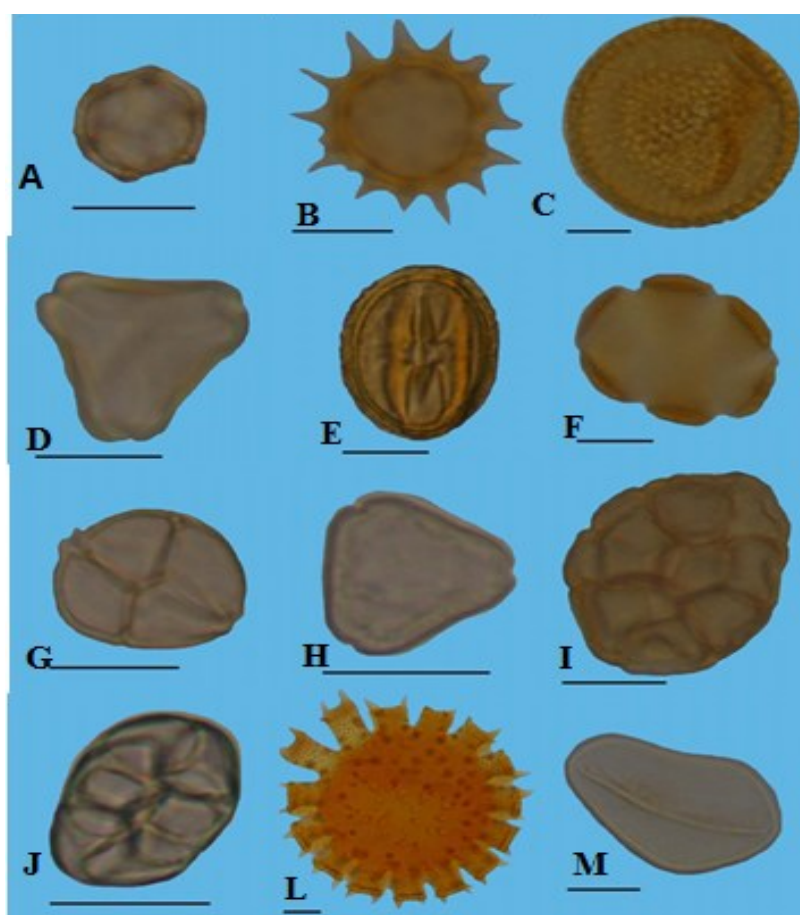
Amostras De méis	Tipo de mel	Tipo polínico (com maior frequência)	Porcentagem (%) e classe	Quantidade de tipos	Localidade
1	Polifloral	<i>Mimosa tenuiflora</i> , Tipo <i>Salvia</i> , <i>Anacardium occidentale</i>	(32,5 PA**), (9,64 PII), (7,23 PII).	20	R. Pombal
2	Polifloral	<i>Myrcia 1</i> , <i>Mimosa tenuiflora</i> , <i>Anacardium occidentale</i> .	(54,38 PD*), (10,66 PII), (8,22 PII).	20	R. Amparo
3	Polifloral	<i>Myrcia 1</i> ; <i>Anacardium occidentale</i> , Tipo <i>Gochnatia</i>	(55,0 PD), (11,13PII), (8,30 PII).	9	R. Amparo
4	Polifloral	<i>Hyptis multiflora</i> , Tipo <i>Salvia</i> , Tipo <i>Gochnatia</i>	(23,7 PA); (10,48PII), (9,52 PII)	20	R. Pombal
5	Polifloral	<i>Myrcia 1</i> , <i>Vernonanthura</i> , <i>Mimosa tenuiflora</i>	(23,01PA), (17,57 PA), (13,28 PII).	19	Tucano
6	Polifloral	<i>Heliotropium</i> , <i>Salvia</i> , Tipo <i>Myrcia 1</i> , Tipo <i>Vernonanthura</i>	25,18 PA), (24,71 PA), (12,47 PII), (12,47 PII).	8	Heliópolis
7	Polifloral	Tipo <i>Myrcia 1</i> , Tipo <i>Schinus</i>	(79,57 PD), (13,91 PII).	4	R. Pombal
8	Monofloral	<i>Pityrocarpa moniliformes</i> (quipé), <i>Piptadenia stipulacea</i>	(74,15 PD), (18,25 PA).	7	Banzaê
9	Polifloral	<i>Myrcia 1</i> , <i>Mimosa tenuiflora</i>	(25,20 PA), (20,22 PA).	25	Tucano
10	Polifloral	Tipo <i>Myrcia 1</i> , Tipo <i>Schinus</i>	(75,21 PD), (13,03 PII).	5	R. Pombal
11	Polifloral	<i>Myrcia 1</i> , <i>Mimosa tenuiflora</i> , Tipo <i>Croton 2</i>	(25,98 PA), (19,30 PA), (11,29 PII).	18	Tucano
12	Polifloral	<i>Myrcia 1</i> , <i>Gochnatia</i>	(49,63 PD), (37,99 PA).	13	E da Cunha
13	Polifloral	<i>Gochnatia</i> , <i>Myrcia 1</i>	(52,17 PD), (42,93 PA).	7	E da Cunha
14	Polifloral	<i>Myrcia 1</i> , <i>Gochnatia</i>	(56,46 PD), (30,93 PA).	13	E da Cunha
15	Monofloral	<i>Eucalyptus sp</i> , <i>Myrcia 3</i>	(68,47 PD), (26,63 PA).	3	Entre Rios

*PD, Pólen dominante (> 45% do total de grãos); **PA, pólen acessório (16-45%); *** PII, pólen isolado importante (3-15%).

Fonte: Autor, 2013.

O tipo polínico *Myrcia* (Figura 7H), foi encontrado em 96,67% das amostras investigadas e o tipo *Eucalyptus* sp. (Figura 7D) estava presente apenas na amostra nº 15 (2011). Os resultados indicam que a distribuição do pólen varia muito entre amostras de méis, o que confirma a influência da diversidade da flora do semi-árido. São muitas as espécies vegetais presentes nas amostras de mel de *A. mellifera*, o que demonstra a diversidade de plantas visitadas por *Apis mellifera* na Região Nordeste do Estado da Bahia.

Figura 4 - Tipos polínicos presentes nas amostras de mel de *Apis mellifera* L. da Região Nordeste do Estado da Bahia:



A- *Alternanthera*; B- *Richardia glandiflora*; C- *Croton*; D- *Eucalyptus*; E- *Gochnatia*; F- *Hyptis*; G- *Mimosa tenuiflora*; H- *Myrcia*; I- *Piptadenia stipulacea*; J- *Pityrocarpa moniliformes*; L- *Richardia glandiflora*; M- *Syagrus coronata* (Escala = 10 µm e Aumento = 100x.).

Fonte: Autor, 2013.

As análises melissopalínológicas devem ser feitas em nível regional, como consequência da grande extensão do nosso país, há uma grande variedade de méis, de modo que não é possível chegar a conclusões generalizadas. Este assunto sempre é motivo de preocupação regional com a tendência de se agrupar em microrregiões de produção de mel (BARTH, 2004). As famílias Mimosaceae, Caesalpiniaceae, e Fabaceae são as mais ricas em tipos polínicos (Figuras 8 e 9). Os méis analisados são na maioria do tipo polifloral, apresentando apenas duas amostras monoflorais.

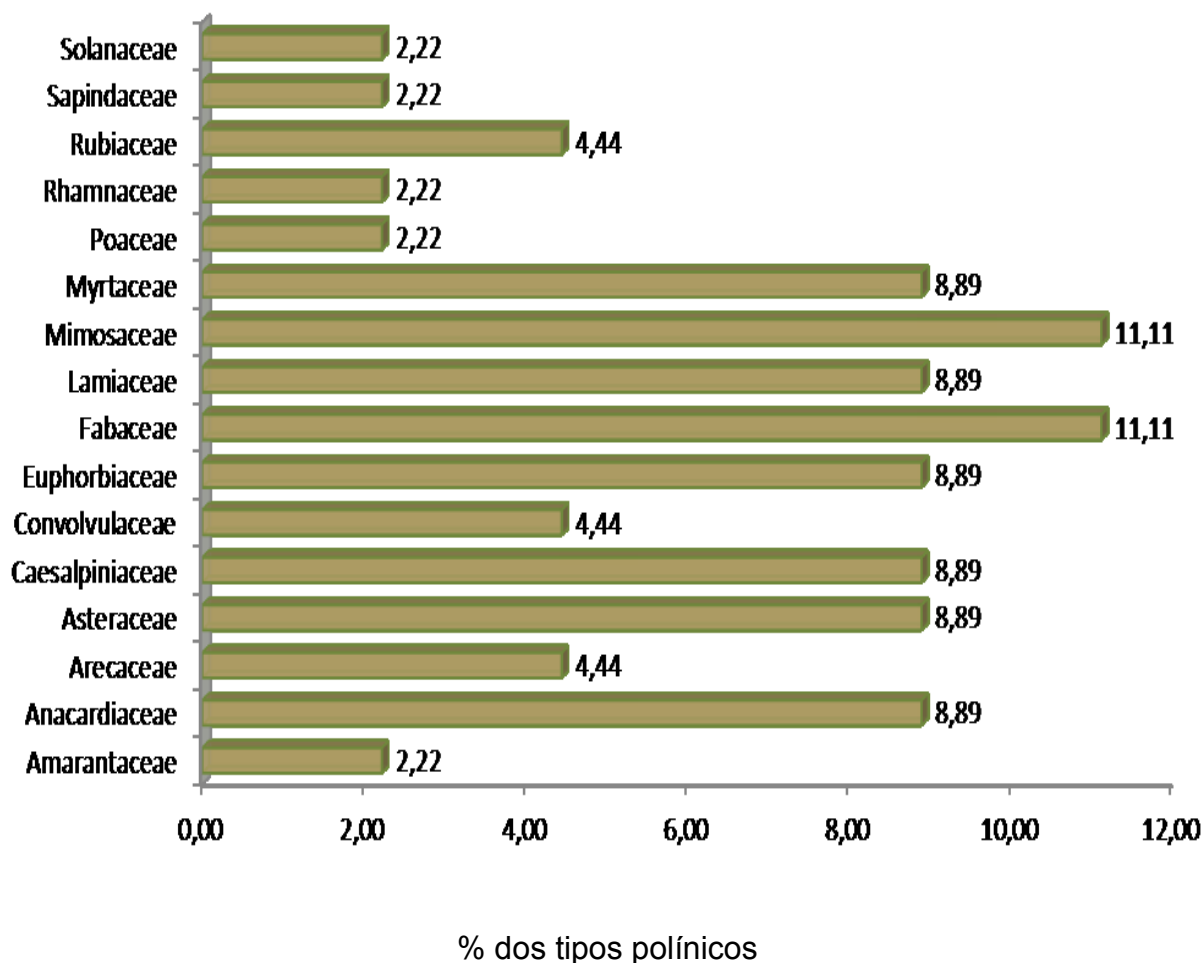
Na distribuição dos tipos polínicos por família das amostras 2009, observa-se que a maior diversidade pertence às famílias Mimosaceae e Fabaceae totalizando 22% (Figura 8).

Costa (2002) em estudo com fontes de pólen utilizadas por operárias de *Apis mellifera* L. observou que Asteraceae, Caesalpiniaceae, Malvaceae e Mimosaceae foram as mais ricas em tipos polínicos encontrados na massa de pólen transportada por *A. mellifera* L. no município de Cruz das Almas-BA.

A família Mimosaceae destaca-se pelo seu elevado potencial apícola, devido a sua ampla distribuição no ecossistema de caatinga e coleta de recursos pelas abelhas eussociais (MARTINS, 1990; CARVALHO e MARCHINI, 1999; CARVALHO et al., 2001; LOREZON et al., 2003; SODRÉ et al., 2008).

Aguiar et al. (1995) observaram que as famílias com maior número de espécies visitadas por abelhas na caatinga da Paraíba foram Convolvulaceae, Caesalpiniaceae, Fabaceae e Cactaceae. Viana et al. (2003), estudando as abelhas que visitam as flores de espécies da caatinga baiana, destacaram a família Caesalpiniaceae como a mais frequente.

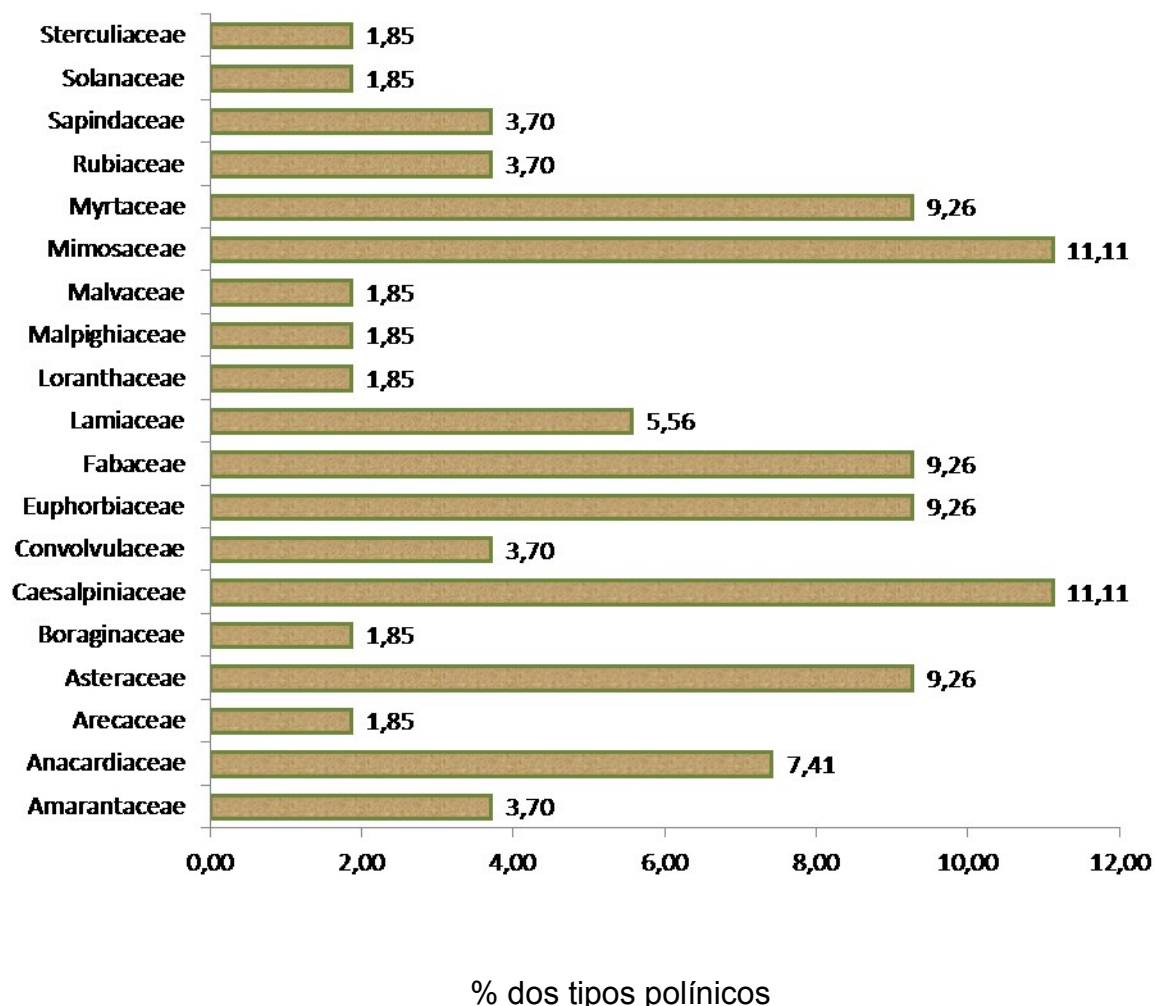
Figura 5 - Distribuição por família dos tipos polínicos presentes em 15 amostras de mel de *Apis mellifera* L., da Região Nordeste do Estado da Bahia, amostras 2009.



Fonte: Autor, 2013.

As amostras de méis de *Apis mellifera* coletadas em 2011 e analisadas pelo método melissopalínogico, foram representadas por 19 famílias e 58 tipos polínicos. As famílias Mimosaceae e Caesalpiniaceae somaram 22% do total de tipos polínicos (Figura 9). Entretanto Moreti et al. (2000), analisando méis de 6 municípios da Bahia, encontraram as famílias Mimosaceae, Mirtaceae e Caesalpiniaceae como as mais importantes. Em estudo de méis em Nova Soure, Bahia, Almeida et al. (2006); ao analisar o espectro polínico de amostras de méis, encontraram a predominância da família Mimosaceae com 34,62% dos tipos polínicos, isso mostra que a família Mimosaceae é importante para a produção de mel da região. Também Silva, (2006) e Sodr e et al. (2008) encontraram a família Mimosaceae com grande destaque nos tipos polínicos de amostras de méis.

Figura 6 - Distribuição por família dos tipos polínicos presentes em 15 amostras de mel de *Apis mellifera* L., da Região Nordeste do Estado da Bahia, amostras 2011.



Fonte: Autor, 2013.

As variações no número de tipos polínicos e suas frequências nas amostras analisadas podem estar relacionadas a alterações na produção de pólen e néctar pela planta, em função das interações com fatores climáticos, além das diferentes estratégias de coleta e preferências florais específicas de cada espécie (CARVALHO et al., 1999). Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Almeida (2007), que verificou a diversidade de espécies vegetais visitadas por *Apis mellifera* em Ribeira do Pombal, sendo representada por 81 espécies, distribuídas em 57 gêneros e 27 famílias. A família com maior riqueza de espécies foi Mimosaceae (17,28% do total de espécies), seguida da Malvaceae (11,11%), Fabaceae (8,64%),

Caesalpiniaceae (6,17%), Euphorbiaceae (6,17%) e Anacardiaceae (6,17%).

4.2 Análises físico-químicas

As características indicadoras da qualidade do mel ainda são pouco conhecidas, principalmente nas regiões tropicais onde existe uma flora apícola muito diversificada. No Brasil, devido à grande diversidade, torna-se necessária uma caracterização e, posteriormente, criação de padrões de qualidade do mel, levando em consideração a vegetação, solo, fatores edafoclimáticos das respectivas regiões onde são produzidos (SODRÉ et al., 2001; MARCHINI et al., 2004b).

A Tabela 10 mostra os resultados obtidos para as análises físico-químicas de 15 amostras de méis de abelhas *Apis mellifera*, colhidas em 2011, na Região Nordeste do Estado da Bahia. Foram analisados os parâmetros: umidade, açúcares redutores, sacarose aparente, sólidos insolúveis, minerais, hidroximetilfurfural (HMF), atividade diastásica, acidez, pH e cor..

Tabela 10 - Parâmetros físico-químicos de méis de abelhas *Apis mellifera*, amostras colhidas em 2011.

Amostras de mel	HMF (mg.kg ⁻¹)	Umidade (%)	Minerais %	Açúcares redutores (%)	Sacarose Aparente (%)	Atividade diastásica	Acidez Livre (meq.kg ⁻¹)	Sólidos insolúveis (%)	pH	Cor (escala pfund)
1	37,87	18,50	0,248	75,66	1,41	21,66	45,40	0,019	3,72	91
2	10,55	20,28	0,27	75,08	0,51	24,28	40,22	0,025	4,17	150
3	15,49	19,07	0,237	79,44	1,92	12,09	40,56	0,067	4,10	135
4	19,23	18,61	0,274	77,52	1,06	19,98	45,22	0,025	3,90	91
5	6,89	18,86	0,472	74,54	0,98	25,58	34,06	0,022	4,14	102
6	29,18	17,85	0,19	75,49	1,34	23,66	37,67	0,016	3,89	74
7	16,91	19,14	0,264	75,59	2,63	22,76	38,01	0,019	3,75	87
8	4,34	17,93	0,075	76,77	2,55	8,83	12,77	0,014	3,80	12
9	27,47	18,36	0,219	78,32	1,70	4,52	38,19	0,023	3,78	81
10	23,73	18,89	0,188	77,26	2,42	14,44	36,50	0,018	3,83	96
11	12,95	18,67	0,225	78,89	2,90	22,12	40,46	0,003	3,98	116
12	27,09	18,24	0,305	78,98	2,49	0,13	48,04	0,007	3,72	72
13	2,99	18,55	0,309	79,81	1,50	0,14	55,72	0,011	3,65	73
14	32,33	17,46	0,246	83,93	1,79	N.detectado	47,99	0,010	3,69	72
15	2,40	17,47	0,293	79,60	1,76	11,57	14,57	0,011	4,25	34
Média	17,96	18,52	0,254	77,79	1,80	14,12	38,36	0,019	3,89	85
Limites da legislação	60	20	0,6	65	6	8	50	0,10	n.a	BRASIL (2000)

OBS: HMF (hidroximetilfurfural), máximo 60 mg kg⁻¹; umidade máximo 20%, cinzas máximo 0,6%; sacarose máximo 6%; **atividade diastásica ≥ 8 escala Gothe, ou ≥ 3 quando o HMF é inferior 15; acidez livre máximo 50 meq kg⁻¹; sólidos insolúveis máximo 0,10%; pH não é estabelecido (n.e); cor não aplicável (n.a).

Fonte: Autor, 2013.

4.2.1 Teor de umidade

O teor de umidade é um dos principais parâmetros de análise da qualidade do mel. A umidade é o segundo componente em quantidade e que varia de acordo com o clima, origem floral e tempo de colheita (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007). O teor de umidade (%) das amostras investigadas variaram de 17,46 a 20,28, que estão dentro do limite permitido $\leq 20\%$ (BRASIL, 2000). Como o mel é proveniente de néctar e/ou exsudações da planta, a composição de água no néctar varia de planta para planta e do manejo utilizado nas diversas etapas desde a colheita ao beneficiamento influenciando no produto final. Teores mais elevados de umidade podem produzir fermentação do mel durante o armazenamento (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007).

Os resultados são semelhantes a outros estudos, tanto no Brasil como em outros países (FEÁS et al., 2010; ESTEVINHO et al., 2012) (Tabelas 11 e 12). No Estado da Bahia, Sodr e et al. (2002) observaram uma varia o de 17,66 a 22,9% para umidade (média 19,77%) em méis do Litoral Norte, enquanto que nos méis provenientes dos Estados do Ceará e Piauí Sodr e et al. (2002) verificaram uma média de 18,17% de umidade. No Estado de São Paulo Cano et al. (2001) obtiveram valores variando de 15,1 a 21,5%. Vilhena e Almeida-Muradian (1999) determinaram média de 16,98% em méis comercializados no Estado de São Paulo.

4.2.2 A uc ares redutores totais

O total de a uc ares redutores variou de 74,54 a 83,93%, como mostrado na Tabela 10. O mel   composto principalmente dos monossacarídeos glicose e frutose. Estes valores foram semelhantes aos obtidos em análise de outras regiões. Fe s et al. (2010) em amostras de mel de Noroeste de Portugal obtiveram 66,7 a 76,9% e média de 72,6%; Sodr e et al. (2011), em amostras de mel de Picos, Estado do Piauí, encontraram 70,38 a 87,39% e média de 82,91%; enquanto para Silva et al. (2004) os valores variaram de 68,92 a 85,49% em amostras de mel também do Piauí. Como tal, todas as amostras estavam acima de 65% de acordo com a legisla o no Brasil (BRASIL, 2000).

4.2.3 Sacarose aparente (açúcares não-redutores)

Os valores encontrados foram de 0,51 a 2,9 g/100 g e médias de 1,8%. Todas as amostras de mel estão dentro dos padrões permitidos pela legislação brasileira $\leq 6\%$. Os valores do presente trabalho são semelhantes ao encontrado por Moreti et al. (2009), cujos valores foram de 0,2 a 8,2 g/100 g, com média de 2,9%; Azeredo et al. (2003), em amostras de mel do Piauí encontrou 3,5 a 5,4 g/100 g, com média de 4,52. Em amostras de mel de Portugal, Estevinho et al. (2012) encontraram valores de 2,2 para 3,6 g/100 g e a média de 2,7%, contudo Gomes et al. (2010) em amostras de méis encontraram valores de 3,4 a 9,7 g/100 g e a média de 6,04, com 40% das amostras fora dos parâmetros estabelecidos para a sacarose aparente. O conteúdo de sacarose pelas normas europeias deve ser inferior a 5%.

4.2.4 Minerais (teor em cinzas)

O teor de cinzas é um indicador do teor de minerais. O seu valor nas amostras analisadas variou de 0,075-0,309%, com média de 0,254 (Tabela 10). Isto está de acordo com a legislação brasileira e Codex Alimentarius, 2001, que estabelece o limite máximo de 0,6%. A variabilidade no teor de cinzas de mel pode ser devida a processos de colheita e técnicas de apicultura e o material recolhido pelas abelhas durante a procura de alimentos na flora. Os valores de cinza nas amostras de mel na Bahia estavam próximos da média obtida por amostras de mel de diferentes regiões do Brasil e de outros países mostraram teor de cinzas variável: Evangelista-Rodrigues et al. (2005), de 0,17-0,20; Araújo; Silva; Sousa (2006), de 0,06 a 0,15%; Moreti et al. (2009) de 0,013-0,6703% e média de 0,197%; Feás et al. (2010) de 0,17% para 0,43%; Sodr e et al. (2011) de 0,05 a 0,18% e média de 0,11%.

4.2.5 Sólidos insolúveis

Sólidos insolúveis em água é um parâmetro indicador de pureza do mel e pode ser relacionado com o processamento. Os sólidos insolúveis no mel não podem exceder o montante de 0,1 g/100 g, exceto para mel prensado, que pode tolerar 0,5 g/100 g (BRASIL, 2000). Os resultados foram de 0,003 a 0,067 e médias

de 0,019 g/100 g para todas as amostras de mel. Todas as amostras estão dentro dos padrões permitidos pela legislação brasileira (0,1%) (BRASIL 2000).

4.2.6 Hidroximetilfurfural (HMF)

O conteúdo de HMF é um parâmetro físico-químico indicador de qualidade do mel (KHALIL; SULAIMAN; GAN, 2010), que pode servir como forma de avaliação rápida da pureza do mel, quanto ao tempo de colheita e de armazenamento das amostras de mel (ESTEVINHO et al., 2012). Quando presente em níveis elevados indica uma queda no valor nutritivo do mel pela destruição, por meio de aquecimento, de algumas vitaminas e enzimas que são termolábeis (VERÍSSIMO, 1988). Recomenda-se que o mel seja consumido no prazo de seis meses a um ano, independentemente do tipo de mel (KHALIL; SULAIMAN; GAN, 2010).

Os dados de HMF variaram entre 2,40-37,87 mg kg⁻¹, enquanto que o limite permitido é até 60 mg kg⁻¹ (BRASIL, 2000) (Figura 12). É bem conhecido que o aquecimento de mel favorece a formação de HMF, que é produzida durante a desidratação catalisada por ácido de hexoses, por exemplo, frutose e glicose (BELITZ e GROSCH, 1999). Em amostras de mel da Malásia, Khalil, Alam; et al. (2011) concluíram que as concentrações de HMF em amostras frescas (armazenada dentro de seis meses a 25-30 °C) variaram entre 2,80-24,87 mg kg⁻¹, o que está dentro da normas recomendadas internacionalmente (80 mg kg⁻¹ para o mel tropical); Khalil et al. (2012) em estudos de méis da Argélia encontraram valores entre 15,23-24,21 mg kg⁻¹. No entanto, as amostras de mel mesmo quando armazenados de 12 a 24 meses possuem concentrações muito mais elevadas de HMF que variam de 118,47 a 1.139 mg kg⁻¹ (KHALIL; SULAIMAN; GAN, 2010).

4.2.7 Atividade diastásica

A atividade diastásica é um parâmetro relacionado com a maturidade e frescura do mel. A diastase (α -amilase) é uma enzima presente no mel (BARHATE et al., 2003) e sua atividade diminui em méis de idade ou aquecidos (TOSI, et al., 2008).

Amostras de mel apresentaram valores muito diferentes, variando entre 0,13

e 25,58 Gothe (Figura 14). Apenas quatro amostras (9, 12, 13 e 14) apresentaram uma atividade diastásica inadequada (<8 Gothe). Özcan; Arslan; Ali Ceylan (2006) sugerem que a atividade da enzima abaixo deste limite tenha sido causada por vários motivos, incluindo a quantidade de sacarose na fonte de alimento, índice de fluxo de néctar e ainda a idade das abelhas. Diferentes valores foram encontrados em várias regiões. Em méis de Turquia, Kahraman et al, (2010), encontraram variações de 3 a 70,4 Gothe; Silva et al. (2008) encontraram os valores de 3 a 38 em escala Gothe, em amostras de méis de Portugal.

Pela legislação, no Brasil, o mínimo de atividade no mel é de 8 na escala Gothe e de 3 se o hidroximeltifurfural não exceder a 15 mg kg^{-1} de mel (BRASIL, 2000).

4.2.8 Acidez livre

Os valores para acidez das amostras de méis 2011 foram de 12,77 a 55,72 e médias $38,36 \text{ mEq kg}^{-1}$ (Tabela 10). A variação na acidez livre entre as 15 amostras de méis pode ser atribuída à diversidade da origem floral. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Estevinho et al. (2012), em amostras de mel de Portugal, com valores entre 38,9 a 41,3 e médias de $40,3 \text{ mEq kg}^{-1}$. Feás et al. (2010), em análise de 45 amostras de mel em Portugal, encontraram 17,2 a 45,2 mEq kg^{-1} , com média de $29,8 \text{ mEq kg}^{-1}$; Finola; Lasagno; Marioli (2007), em amostras de méis da Argentina de 11,9 a 29,4 mEq kg^{-1} e média $20,6 \text{ mEq kg}^{-1}$. A acidez livre do mel pode ser explicada pela presença de ácidos orgânicos que estão dissolvidos em solução aquosa no mel e liberam prótons que promovem a sua acidez ativa permitindo, assim, indicar as condições de armazenamento e o processo de fermentação (CORNEJO, 1988). O teor de ácido do mel é relativamente baixo, mas é importante para o sabor do mel. Todas as amostras se encontram dentro dos padrões permitidos pela legislação brasileira, que estabelece limite máximo de 50 mEq kg^{-1} . A única exceção foi a amostra de número 13, com valor de $55,72 \text{ mEq kg}^{-1}$.

4.2.9 Valores de pH

O pH variou de 3,65 a 4,17 e média de 3,89, nas amostras 2011 e os valores de 3,68 a 5,29 nas amostras de méis de 2009. Normalmente méis de *Apis mellifera* tem valores na faixa de 3,20 a 5,30. No Ceará, Sodré et al. (2007)(a) encontraram valores de 3,36 a 3,78, mas em estudos no Estado do Piauí, Moreti et al. (2009) encontraram 3,20 a 4,60. Sodré et al. (2011) encontraram valores de 3,4 a 3,9. Nas pesquisas com méis, Silva et al. (2004) no Piauí; Borsato et al. (2010) no Paraná; Moreti et al. (2009), no Ceará e Lacerda et al. (2010), na Bahia, encontraram valores máximos para a pH de 5,3 (Tabela 11).

Em relação a pesquisas em outros países (Tabela 12), Corbella e Cozzolino (2006), encontraram valor mínimo para pH de 3,0, já Anupama; Bhat; Sapna. (2003), em méis da Índia, encontraram o valor máximo de 5,46, mostrando com isso que a variação nos valores de pH pode ser de 3,0 a 5,49.

Os resultados para as características físico-químicas de méis do gênero *Apis* do Brasil e de vários países do mundo estão listados nas tabelas 11 e 12.

Os méis brasileiros foram caracterizados pela utilização dos parâmetros físico-químicos, visando gerar subsídios para orientar a produção e processamento adequados e garantir a qualidade deste produto no mercado.

Para a caracterização dos méis também é importante considerar a diversidade botânica e variações edafoclimáticas de cada região (SODRÉ et al., 2001).

Tabela 11 - Parâmetros físico-químicos de amostras de méis de *Apis mellifera* no Brasil.

Estados	HMF (mg kg ⁻¹)	Umidade (%)	Minerais (%)	Açúcar red. (%)	Sacar. Ap (%)	Atividade diastásic	Acidez Livre (mEq kg ⁻¹)	Sólidos ins. (%)	pH	Cor	Referências
Bahia - (2009)	7,48-541,83	16,11-20,28	0,183-0,83	66,14- 79,90	0,15- 3,33	3,66-7,56	18,03-335,32	0,007- 0,149	3,68-5,26	150-150	Presente Trabalho
Bahia - (2011)	2,4 - 37,87	17,47-20,28	0,075- 0,472	74,54- 83,93	0,51- 2,63	0,13- 25,58	12,77-55,72	0,003- 0,067	3,65-4,25	12-150	Presente Trabalho
Bahia	----	17,2-21,2	0,09-0,63	---	---	---	15,65-61,00	----	3,64-5,30	<0,10- 167,79	Lacerda et al. (2010).
Bahia	24,33±18,77	19,77±0,77	0,30±0,01	---	---	---	29,10±7,04	---	3,77±0,25	--	Sodré e al. (2003)
Bahia	31,45±34,70	18,73±1,06	0,18±0,09	--	--	---	30,13±9,45	---	3,57±0,12	---	Sodré et al. (2007)
Bahia	2,88-340,03	17,00-21,00	0,06-0,15	--	--	--	21,57 - 59,60	0,03 - 0,24	3,45- 3,70	----	Araújo et al. (2006)
Bahia	8,61 - 220,97	15,00 - 20,00	0,01 - 0,36	--	--	-			3,00- 4,30	----	Barth et al. (2005)
Ceará	14,21±4,21	18,46±0,61	0,20±0,03	--	--	--	30,21±4,51	---	3,67±0,09	----	Bendine e Souza (2008)
Ceará	1,5-126,5	15,0-20,3	0,013- 0,670	70,6-84,6	0,2-8,2	---	6,0 - 48,00	----	3,4 - 5,3	---	Moreti et. al.(2009)
Ceará	1,5-8,08	14,97-17,23	0,127- 0,246	74,76- 81,99	0,84- 8,19	--	6,0-13,0	--	3,58-3,83	----	Arruda et al. (2005)

Tabela 11 - Parâmetros físico-químicos de amostras de méis de *Apis mellifera* no Brasil.

Estados	HMF (mg kg ⁻¹)	Umidade (%)	Minerais (%)	Açúcar red. (%)	Sacar. Ap (%)	Atividade diastásic	Acidez Livre (mEq kg ⁻¹)	Sólidos ins. (%)	pH	Cor	Referências
Paraíba	20,70 - 23,90	18,06 - 18,76	0,17- 0,20	--	--	--	35,00 - 41,66	0,01	3,85- 4,61	----	Rodrigues et al. (2005)
Paraná	<i>n.d.</i> – 83.83	15.10-21.58	<i>n.d.</i> – 1.68	58.75- 82.37	<i>n.d.</i> -14.7	1.19 – 47.14	8.75 - 62.71	<i>n.d.</i> -0,22	3.60 – 5.35	7.13- 155.54	Borsato et al.(2010)
	3,20 - 6,98	16,60- 19,40	--	--	--	--	17,70 - 34,50	--	--	----	Costa et al.
Piauí	0,30 - 8,96	17,60 - 19,7	0,07- 0,14	--	--	--	10,10-28,33	0,06 - 0,14	3,54- 5,30	--	Silva et al. (2004)
	1,50-115,20	16,40-19,00	0,05-0,18	74,70- 82,80	0,20- 6,70	5,30- 12,70	10,0-30,0	-----	3,40-3,90	--	Sodré et al. (2011)
Rio Grande do Sul	4,70±10,5	16,20±0,009	0,23±0,001	----	----	----	30,10±9,20	0,13±0,00 1	4,00±0,20	---	Welke et al. (2008)
São Paulo	1,9-19,1	15,8-19,5	0,13-1,0	60,9-71,5	0,4-3,5	---	15,1-47,0	----	3,8-4,9	----	Mendonça et al. (2008)
Tocantins	----	16,2 -21,0	0,01 - 0,30	62,70- 76,20	---	---	35,0 -59,0	---	3.4 - 4.2	---	Abadio Finco et al. (2010)
Limites da legislação	60	20	0,6	65	5	≥ 8 **	50	0,10	n.e.	n.a	BRASIL, (2000)

OBS: HMF (hidroximetilfurfural), máximo 60 mg kg⁻¹; umidade, máximo 20%, cinzas, máximo 0,6%; sacarose, máximo 6%; **atividade diastásica, ≥ 8 escala gothe, ou ≥3 quando o HMF é inferior 15; acidez livre, máximo 50 mEq.Kg⁻¹; sólidos insolúveis, máximo 0,10%; pH, não é estabelecido (n.e); cor, não aplicável (n.a).

Fonte: Autor, 2013.

Tabela 12 - Parâmetros físico-químicos de amostras de méis de *Apis* em diversos países.

Países	HMF (mg kg ⁻¹)	Umidade (%)	Minerais %	Açucar Red. (%)	Sacar. Apar. (%)	At. diast	Acidez Livre (mEq kg ⁻¹)	Sólidos insolúv. (%)	pH	Cor	Referências
África do Sul	3,00 - 27,5	15,40 -21,0	0,10 - 0,80	--	--	--	25,40 - 59,00	---	3,50 - 4,50	---	Meda et al. (2005)b
Argentina	1.1-44.8	16-23.4	0.063	---	--	---	20.6	---	--	---	Finola, et al. (2007)
Argentina	8.98	16.2	0.11	68.1	4.05	19.7	30.2	--	--	--	Cantarelli et al. (2008)
Argentina	4,0- 49.0	14.1- 18.8	--	67.7- 73.5	0.4- 5.6	---	9.9- 36.8	--	3.18- 4.10	12- 126	Isla et al. (2011)
Bulgária	0,50±0,30	16,30± 0,70	---	---	---	---	--	---	--	---	Dinko Dinkov (2003)
Austrália	----	10.6 -17.8	----	---	---	---	17.6 - 20.3	---	4,02 -4.69	---	Ajlounl e Sujirapinyokul (2010)
Camarões	---	16,49±1,19 - 18,00±1,20	0,36±0,31 - 0,66±0,36	----	----	----	--	----	4,38±0,22 - 5,16±0,12	---	Tchoumboue et al .(2007)
Cuba	3,3 – 15,9	17.4 - 20,3	0,18 – 0,50	---	---	13.4 33.4	-- 16.8 – 27,7	----	3,9 - 4,9	12.2- 88,9	Alvarez-Suarez, Tulipani et al., 2010b).
Espanha	0,00-15,65	13,00 - 18,70	0,003 - 0,99	----	---	---	14,50- 59,60	----	3,63- 5,01	--	Soria et al. (2004)
França	2,65±2,11 - 5,16±2,64	16,70± 0,48 - 18,79± 0,85	---	---	---	---	--	----	3,70±0,008 - 5,28±0,46	---	Devillers et al. (2004)

Tabela 12 - Parâmetros físico-químicos de amostras de méis de *Apis* em diversos países.

Países	HMF (mg kg ⁻¹)	Umidade (%)	Minerais %	Açucar Red. (%)	Sacar. Apar. (%)	At. diast	Acidez Livre (mEq kg ⁻¹)	Sólidos insolúv. (%)	pH	Cor	Referências
Índia	----	17,0-22,6	----	61,3 – 72,6	1,2-5,7	----	---	----	3,62 -5,46	----	Anupama; Bhat; Sapna (2003).
Índia	----	13.97-18.65	0.12-0.28	---	---	--	14.57- 32.65	--	--	--	Nanda et al (2003)
Índia	--	17,2 - 20	0,03-0,43	--	0,4-8,8	--	--	--	3,7 -4,4	---	Saxena, Gautam e Sharma (2010b).
Irlanda	--	17,20± 0,70	0,10±0,01	---	---	---	37,00±6,30	---	4,10±0,10	--	Downey et al. (2005)
Itália	0,8-25,3	15,1-18,3	0,03-0,39	--	0,0-4,7	17,0-84,0	--	--	3,05-4,50	--	Esti et al. (1997)
Itália	1,23-5,95	15,25-18,5	0,008-0,6	--	--	7,6-33,9	9,7-25,5	--	3,4-5,9	--	Fallico et al. (2004)
Marrocos	17,50±9,10	17,59± 1,88	---	--	--	--	41,90±12,4 0	---	3,72±0,38	--	Terrab et al. (2002)
Nepal	--	17,14± 2,56	--	--	--	--	--	---	3,52±0,32	--	Joshi et al. (2000)
Paquistão	---	16,60±2,49	0,30±0,08	--	--	--	26,00±1,50	---	4,30±0,27	--	Rehman et al. (2008)
Polônia	---	15,72±1,53 - 17,96±2,20	0,10±0,02 - 0,58±0,12	69,07- 79,95	--	--	--	---	-3,67-4,24	--	Popek et al. (2002)
Portugal	0.2–22.8	16.8–18.6	0.17-0.43	66.7–76.9	2.7-4.5	10–30	17.2-45.2	--	3.5-4.2	--	Feás et al. (2010)
Portugal	0.8 - 1.5	14.5 - 16.3	0,04 - 0,47	65,6 -68,9	2,2–3,6	13,9-16,4	38.9–41.3	--	3.5 - 4,0	--	Estevinho, et al. (2012)
Portugal	1,70 – 471	13,60 - 19,20	0,1 - 0,5	--	--	2 - 18	13,2 – 38.7	0,01 - 0,16	3,45 - 4,7	--	Mendes et al. (1998);

Tabela 12 - Parâmetros físico-químicos de amostras de méis de *Apis* em diversos países.

Países	HMF (mg kg ⁻¹)	Umidade (%)	Minerais %	Açucar Red. (%)	Sacar. Apar. (%)	At. diast	Acidez Livre (mEq kg ⁻¹)	Sólidos insolúv. (%)	pH	Cor	Referências
Portugal	1.75- 32.75	13.52- 19.70	0.09-0.53	--	--	3-38	10.5- 38.1		3,45-4,7	--	Silva et al. (2009)
Portugal	18.0- 94.0	15.9- 17.03	0.07- 0.35	67.7- 73.7	3.4- 9.7	8.7-16.1	16.0-32,0	--	3.7- 4.3	--	Gomes et al. (2010)
Romênia	---	15,40-20,0	0.03-1.23	---	---	--	--	--	--	11-103	Al et al. (2009)
Romênia	--	----	0.02-0.28	---	---	--	--	--	3.43- 4.96	--	Cimpoi et al. (2012)
Eslováquia	---	14,14 - 20,0	---	--	--	--	---	---	3,58 - 5,12	--	Kačániová et al. (2007)
Eslovênia	----	13,40 - 18,0	---	--	---	---	---	----	--	--	Abramovic et al. (2008)
Turquia	19.2-28.6	17 -19,7	0,2-0,5	65.8-66.8	1.47- 3.34	17.7-23.0	--	0,05- 0.085	---	-	Küçük et al. (2007)
Uruguai	5.25- 13.4	16,6- 18,6	--	--	--	--	--	--	3.0- 4.3	63-99	Corbella e Cozzolino (2006)
Venezuela	---	18.6–20.4	0.19–0.64	--	2.21– 5.52	--	24.4–53.3	--	--	--	Rodriguez et al. (2004)
Limites da legislação	≤ 60	≤ 20	≤ 0,6	≥ 65	≤ 6	≥ 8 **	≤ 50	≤ 0,10	n.e.	n.a	BRASIL (2000)
Limites legislação	≤ 40 ***	≤ 20	≤ 0,6	≥ 60	≤ 5	≥ 8 **	≤ 50	≤ 0,10	n.e	--	CODEX (2001)

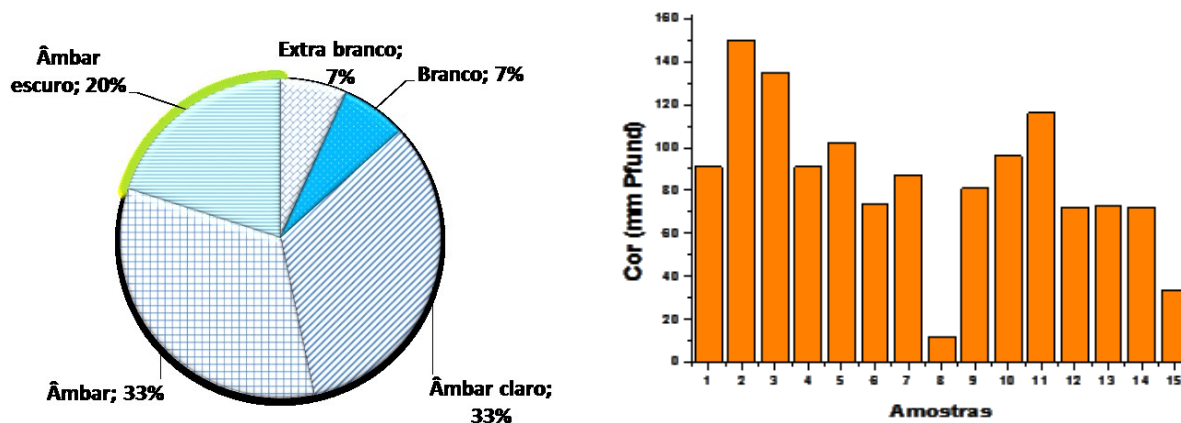
OBS: HMF (hidroximetilfurfural), máximo 60 mg kg⁻¹, admite até 80 mg kg⁻¹ para mel de regiões tropicais. Umidade, máximo 20%, cinzas, máximo 0,6%; sacarose, máximo 6%; **atividade diastásica, ≥ 8 escala Gothe, ou ≥3 quando o HMF é inferior 15; acidez livre, máximo 50 mEq kg⁻¹; sólidos insolúveis, máximo 0,10%; pH, não é estabelecido (n.e); cor não aplicável (n.a).

Fonte: Autor, 2013.

4.2.10 Cor

A cor de mel é uma das principais características sensoriais, com grande atratividade para os consumidores. Isso depende de vários fatores, tais como o seu conteúdo mineral (GOMES et al., 2010), o conteúdo de pigmentos (carotenóides e flavonóides) (WANG e LI, 2011), origem botânica e partículas em suspensão como o pólen (MOHAMED et al., 2009). A Figura 10 mostra os resultados das cores das amostras de mel. Note-se que existe uma percentagem de 33% para a cor âmbar e a cor âmbar claro e a cor âmbar escuro é de 20%. Assim, há uma predominância de cor âmbar no presente caso. Para a cor extra branco e branco, há 7% cada. Lacerda et al. (2010) analisaram 24 amostras de mel de Vitória da Conquista-BA e encontraram uma predominância de branco (29%) e âmbar escuro (25%). É interessante notar que as amostras nº 8 e nº 15 são as mais claras (Figura 10), e foram classificadas como monoflorais. Para as amostras do ano de 2009 todas as amostras foram escuras (âmbar escura) (Tabela 13).

Figura 7 - Cores das amostras de méis de *Apis mellifera* 2011 - escala Pfund



Fonte: Autor, 2013.

Resultados para méis colhidos com mais de um ano e meio (amostras 2009)

No Brasil vários são os trabalhos com análise físico-química com mel, mas na Região Nordeste do Estado da Bahia este é o primeiro, onde se caracterizam os parâmetros físico-químicos, melissopalínológicos, microbiológicos e a capacidade antioxidante.

A tabela 13 mostra os resultados para méis de *Apis mellifera*, analisados após um ano e meio, pós colheita, como é utilizado normalmente no comércio e conservados à temperatura ambiente, em recipientes de plástico. A temperatura ambiente, no nordeste é elevada, com médias entre 20 e 28° C (IBGE, 2013).

As informações deste trabalho serão discutidas comparando com os méis analisados logo após a colheita e com outros trabalhos publicados em artigos e pela legislação brasileira (BRASIL, 2000).

Os dados físico-químicos de méis de *Apis mellifera* analisados, comparados com 16 artigos no Brasil, estudados nos estados da Bahia (2), Piauí (3), Ceará (6), Paraíba (1), Paraná (1), São Paulo (1), Tocantins (1), Rio Grande do Sul (1) (Tabela 11). Destas referências, 12 são do nordeste, e apresentam diferenças nas características analisadas, provavelmente devidas à variabilidade do produto ou outros fatores como, colheita, manejo, armazenamento, flora. Analisando a tabela 11, os parâmetros variaram da seguinte maneira: para HMF 0,30 a 340, acidez livre de 6,0 a 62,71, atividade diastásica 1,19 a 47,14, açúcares redutores 58,75 a 82,80, umidade 14,97 a 21,58, sacarose aparente 0,2 a 8,2, sólidos insolúveis de não detectado a 0,24, pH 3,0 a 5,35, Cor 10 a 150 Pfund. Os parâmetros que apresentaram maiores variações em relação a legislação foram: HMF, atividade diastásica e acidez livre.

Tabela 13 - Parâmetros físico-químicos de méis de abelhas *Apis mellifera*, amostras coletadas em 2009

Amostras de Mel	HMF (mg kg ⁻¹)	Umidade (%)	Minerais %	Açúcares redutores (%)	Sacarose Aparente (%)	Atividade diastásica	Acidez Livre (mEq kg ⁻¹)	Sólidos insolúveis (%)	pH	Cor
1	178,14	18,08	0,278	77,28	1,42	3,60	36,53	0,039	4,02	150
2	175,09	17,72	0,267	75,63	0,87	6,11	39,62	0,030	3,98	150
3	137,2	18,78	0,215	79,90	0,19	6,86	23,72	0,058	3,96	150
4	395,1	18,27	0,183	74,55	1,30	7,44	55,27	0,009	3,68	150
5	7,48	16,11	0,83	70,77	0,15	6,21	18,03	0,010	5,26	150
6	137,70	17,74	0,28	78,24	0,37	6,66	31,38	0,012	4,18	150
7	229,72	17,32	0,274	76,42	3,01	7,44	335,32	0,036	4,09	150
8	217,02	17,86	0,230	78,03	0,32	5,32	34,97	0,038	3,87	150
9	204,29	18,10	0,222	66,14	0,91	4,29	28,96	0,009	3,94	150
10	274,62	19,12	0,220	75,65	3,33	4,38	40,34	0,022	3,73	150
11	197,60	17,68	0,211	78,47	0,28	5,12	41,06	0,149	3,95	150
12	206,55	18,39	0,235	77,70	2,09	4,38	38,40	0,092	4,03	150
13	541,83	17,46	0,377	74,46	1,76	3,66	58,95	0,066	3,87	150
14	329,27	18,85	0,277	72,92	0,99	7,56	42,60	0,007	3,87	150
15	119,73	20,28	0,453	73,89	0,69	4,34	27,37	0,030	4,02	150
Média										
Limites da legislação	60	20	0,6	65	6	8	50	0,10	n.a	BRASIL (2000)

OBS: HMF (hidroximetilfurfural), máximo 60 mg kg⁻¹; umidade máximo 20%, cinzas máximo 0,6%; sacarose máximo 6%; **atividade diastásica ≥ 8 escala Gothe, ou ≥3 quando o HMF é inferior 15; acidez livre máximo 50 mEq.Kg⁻¹; sólidos insolúveis máximo 0,10%; pH não é estabelecido (n.e); cor não aplicável

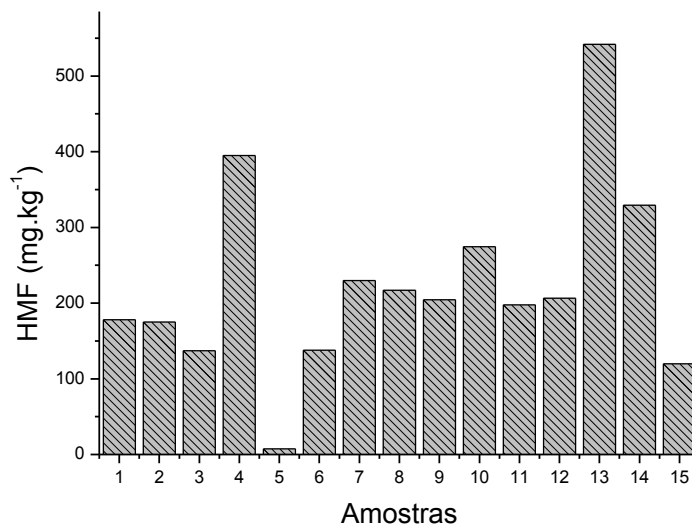
Fonte: Autor, 2013.

Analisando os resultados dos méis da Região Nordeste do Estado da Bahia, apenas, o HMF, a atividade diastásica e acidez livre tiveram modificações excedendo os valores estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2000).

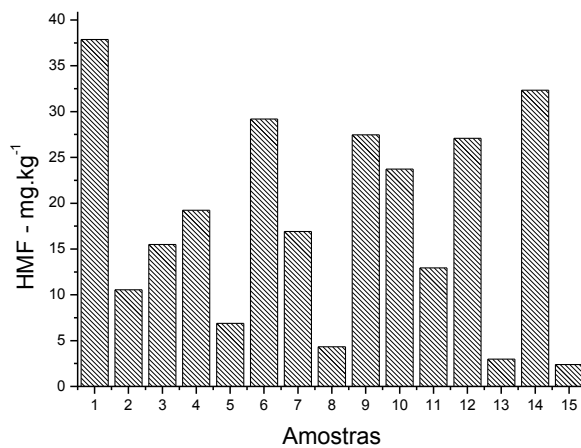
4.2.11 HMF

O HMF variou nas amostras de mel entre 7,48 a 541,83, a legislação indica valores até 60 mg kg⁻¹, então 93,33% das amostras estão acima dos limites estabelecidos, BRASIL (2000) (Figura 11). Khalil; Sulaiman; Gan (2010) afirmam que amostras de mel mesmo quando armazenados de 12 a 24 meses possuem concentrações muito elevadas de HMF que variam entre 118,47 a 1.139 mg kg⁻¹, confirmando a grande variação encontrada neste trabalho. As condições inadequadas de armazenamento podem elevar os níveis de HMF no mel de *Apis mellifera*, que também é afetado pela acidez, teor de umidade e sais minerais (WHITE JÚNIOR, 1976; SEEMANN e NEIRA, 1988; SALINAS; ESPINOSA-MANSILLA-VEVADO, 1991).

Vários estudos têm demonstrado valores elevados para o HMF. Sodré et al. (2005), em méis do Ceará e Piauí, encontraram valores até 126 mg kg⁻¹, também em méis do Ceará, Moreti et al. (2009) encontraram valores até 126 mg kg⁻¹. Sodré et. al (2011), para méis do Piauí, encontraram valores até 115,20 mg kg⁻¹ (Tabela 11). Entretanto, White Junior (1992) afirma que em méis de países subtropicais podem ter naturalmente um alto valor de HMF, mesmo sem ter sofrido superaquecimento ou adulteração, devido às temperaturas elevadas.

Figura 11 - Resultados de HMF em amostras de méis de *Apis mellifera*, 2009

Fonte: Autor, 2013.

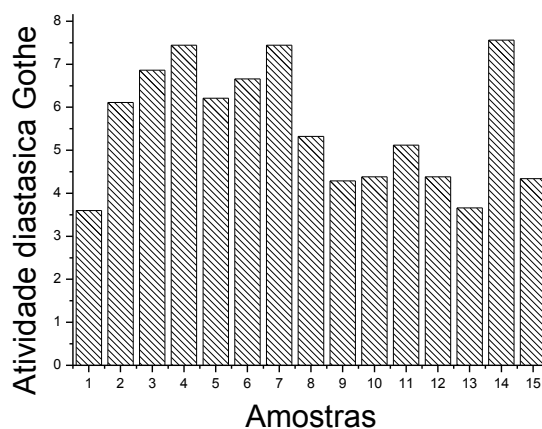
Figura 12 - Resultados de HMF em amostras de méis de *Apis mellifera* 2011

Fonte: Autor, 2013.

4.2.12 Atividade diastásica

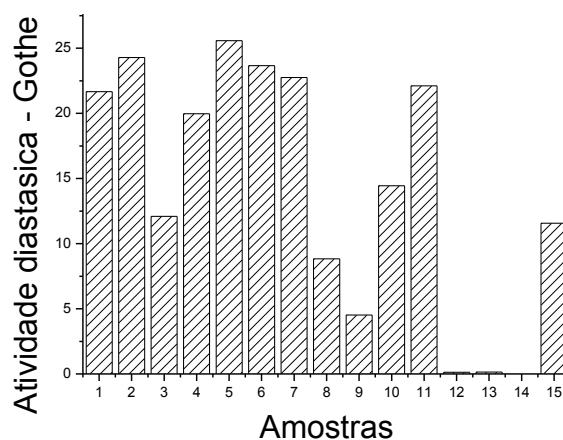
Para a atividade diastásica, os resultados foram entre 3,60 a 7,56 Gothe. O valor mínimo aceitável pela legislação brasileira é de 8,0 Gothe, ou 3 Gothe quando o HMF for inferior a 15 mg kg⁻¹, então verificamos que apenas 1 amostra encontrava-se de acordo com a legislação, BRASIL, (2000) (Figura13). A principal importância dessa enzima refere-se a sua sensibilidade ao calor, sendo utilizada para avaliar a qualidade do mel, fornecendo indicação sobre o estado de conservação e superaquecimento. White Junior (1994), assim como Tosi et al. (2008), por considerarem os diferentes resultados de atividade desta enzima fazem dela uma característica duvidosa para avaliação de méis submetidos a temperaturas elevadas.

Figura 13 - Resultados de atividade diastásica em méis de *Apis mellifera*, amostras 2009.



Fonte: Autor, 2013.

Figura 14 - Resultados de atividade diastásica em méis de *Apis mellifera* 2011



Fonte: Autor, 2013.

4.2.13 Acidez

Os resultados para acidez nas amostras, foram de 18,03 a 58,95, com exceção da amostra n° 7, com valor de 335 mEq kg⁻¹. Nas amostras n° 4 e n°13, os valores foram de 55,27 e 58,95 respectivamente (Tabela 13). A grande variação na acidez pode estar também relacionado com a origem floral (NANDA et al., 2003), porém, Gomes et al. (2010) afirmam que valores elevados de acidez podem ser indicativos de fermentação de açúcares em ácidos orgânicos, sendo ainda influenciados pela quantidade de minerais presentes no néctar (BARTH, 1989).

4.3 Análises Microbiológicas

A Legislação Brasileira (BRASIL, 2000) não estabelece os padrões microbiológicos para o mel de abelhas. A fundamentação provável destes parâmetros foi baseada nas próprias características do mel, tais como: baixa atividade de água, alta concentração de açúcares e baixo pH, o que lhe confere, uma proteção natural contra microrganismos.

Os resultados das análises microbiológicas das 21 amostras de méis da Região Nordeste do Estado da Bahia estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Análises microbiológicas de mel de *Apis mellifera* produzido na Região Nordeste do Estado da Bahia: contagem padrão de bolores e levedura (UFC.g-1), aeróbios mesófilos e psicotróficos (UFC g-1), coliformes totais e termotolerantes (NMP g-1) (amostras, 2011).

Amostras	Bol./Lev. (UFC g ⁻¹)	Aeróbios		Coliformes (NMP g ⁻¹)	
		Psicotróficos (UFC g ⁻¹)	Mesófilos (UFC g ⁻¹)	Totais (35 °C)	Termotolerantes (45 °C)
01	<1,0x10	<1,0x10	3,5x10 ²	<3,0	<3,0
02	5,0x10	<1,0x10	2,3x10 ²	<3,0	<3,0
03	2,0x10 ²	<1,0x10	1,0x10 ²	<3,0	<3,0
04	1,0x10 ⁴	<1,0x10	6,5x10	<3,0	<3,0
05	<1,0x10	<1,0x10	7,5x10 ²	<3,0	<3,0
06	5,0x10	<1,0x10	5,0x10 ²	<3,0	<3,0
07	<1,0x10	<1,0x10	1,1x10 ²	<3,0	<3,0
08	<1,0x10	<1,0x10	2,5x10	<3,0	<3,0
09	2,5x10 ⁴	<1,0x10	1,4x10 ²	<3,0	<3,0
10	5,0x10	<1,0x10	3,0x10 ²	<3,0	<3,0
11	5,0x10	<1,0x10	4,2x10 ²	<3,0	<3,0
12	<1,0x10	<1,0x10	9,5x10	<3,0	<3,0
13	1,0x10 ²	<1,0x10	5,5x10	<3,0	<3,0
14	<1,0x10	<1,0x10	1,3x10 ²	<3,0	<3,0
15	1,0x10 ²	<1,0x10	2,0x10 ²	<3,0	<3,0
16	5,0x10	<1,0x10	3,5x10	<3,0	<3,0
17	5,0x10 ²	<1,0x10	3,5x10	<3,0	<3,0
18	1,0x10 ²	<1,0x10	1,8x10 ²	<3,0	<3,0
19	4,5x10 ²	<1,0x10	4,0x10	<3,0	<3,0
20	2,5x10 ²	<1,0x10	1,4x10 ³	<3,0	<3,0
21	5,0x10	<1,0x10	8,5x10	<3,0	<3,0
Média	1,76x10 ³	<1,0x10	2,5x10 ²	<3,0	<3,0

Fonte: Autor, 2013.

O valor médio para a contagem de bolores e leveduras foi de 1,76x10³ UFC.g⁻¹. No entanto, 29% das amostras analisadas foram isentas da presença destes microrganismos (<1,0x10 UFC.g⁻¹). As demais apresentaram contagem com valores de 5,0x10 a 2,5x10⁴ UFC.g⁻¹. Os valores máximos foram constatados nas amostras 04 e 09. Valores próximos aos encontrados no presente estudo foram verificados em alguns trabalhos referentes à microbiologia do mel de *Apis mellifera*. Sodré et al. (2007(b)) analisaram 58 amostras de méis dos Estados do Ceará e Piauí,

verificando médias de $1,2 \times 10^3$ e $2,66 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ para estes Estados. Silva, Chaves et al. (2008) trabalhando com amostras de méis de entrepostos registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF) do Estado de Minas Gerais constataram média de $3,7 \times 10^3$ UFC.g⁻¹.

A contagem total de aeróbios mesófilos apresentou valores entre $2,5 \times 10$ a $1,4 \times 10^3$ UFC.g⁻¹, com média de $2,5 \times 10^2$ UFC.g⁻¹. Pires (2011) ao analisar a presença destes microrganismos em mel produzido no Piauí encontrou valores de $1,0 \times 10^4$ e $5,0 \times 10^4$ UFC.g⁻¹. Em outras pesquisas não é comum a mensuração deste grupo de microrganismos, no entanto, conforme Silva et al. (2010) esta análise é o método mais utilizado como indicador geral de populações bacterianas em alimentos. Não é um indicador de segurança, pois não está diretamente relacionado à presença de patógenos ou toxinas. Dependendo da situação, pode ser útil na avaliação da qualidade, porque populações altas de bactérias podem indicar deficiências na sanitização ou falha no controle do processo.

Como consta em Landgraf (2008), todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas. Na maioria dos alimentos as alterações organolépticas são detectáveis quando os números são superiores a 10^6 UFC.g⁻¹. Normalmente, em alimentos fermentados, a população microbiana é de, aproximadamente, 10^8 UFC.g⁻¹ sem necessariamente serem considerados deteriorados. Os resultados encontrados neste trabalho são inferiores aos mencionados anteriormente.

Em nenhuma das amostras de mel analisadas foi verificada a presença de bactérias aeróbias psicrotróficas ($< 1,0 \times 10$ UFC.g⁻¹). Estes microrganismos crescem em alimentos sob refrigeração, porém na classificação tradicional dos microrganismos em função da temperatura, os psicrotróficos são um subgrupo dos mesófilos, apresentando temperatura ótima de crescimento acima de 20 °C (SILVA et al., 2010).

Todas as amostras foram negativas para presença de coliformes totais e termotolerantes ($< 3,0$ NMP.g⁻¹). Os microrganismos pertencentes ao grupo dos coliformes podem ser utilizados para refletir a qualidade microbiológica de produtos em relação à vida de prateleira ou à segurança, neste último caso, devido à presença de patógenos alimentares. Em geral, microrganismos indicadores, como o

grupo dos coliformes, são utilizados para avaliar a sanificação dos produtos (SILVA; MAIA et al., 2008). Desse modo, os resultados obtidos neste trabalho para este grupo de microrganismos podem evidenciar segurança e que o produto possui qualidade higiênico-sanitária satisfatória.

Resultados semelhantes foram constatados por outros autores. Sodré et al. (2007 b) analisaram méis do Ceará e Piauí; Silva, Maia et al. (2008) avaliaram méis produzidos por pequenos apicultores e méis de entrepostos de Minas Gerais; Alves et al. (2009) estudaram amostras de mel orgânico das ilhas do alto do rio Paraná; Pires (2011) verificou a qualidade microbiológica do mel de abelhas *Apis mellifera* produzido no Piauí. Em todos não foi detectada a presença de microrganismos do grupo dos coliformes.

O controle da qualidade da produção do mel é primordial, tornando-se fundamental o atendimento das boas práticas de higiene por parte dos produtores, bem como a utilização de um local adequado para o manuseio e extração do mel (PIRES, 2011).

A Portaria nº 367 de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997), a qual considerava alguns padrões microbiológicos para o mel foi revogada. A legislação brasileira vigente, representada pela Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000 onde consta em anexo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do mel, não estabelece parâmetros microbiológicos para este produto, apenas recomenda procedimentos higiênicos para a manipulação do mel (BRASIL, 2000).

As análises microbiológicas em alimentos são de fundamental importância para a prevenção de enfermidades transmitidas pelos mesmos, e para o mel não seria diferente, já que se trata de um alimento amplamente consumido no mundo (PIRES, 2011).

4.4 Determinação do teor de fenólicos totais (TPC) e capacidade antioxidante de méis

Vários estudos têm relacionado à importância de polifenóis em nutrição e saúde humana. A Tabela 15, mostra TPC, DPPH, FRAP e resultados CUPRAC obtidos a partir das 15 amostras de mel em estudo. Os valores de TPC variaram entre 27,0-92,7 mg GAE 100 g⁻¹ de mel, sendo os maiores valores encontrados para as amostras nº 2, nº 5 e nº 11 (todos classificados como méis poliflorais), quando comparadas com as amostras nº 8 e nº 15 (méis monoflorais). Variações em TPC podem ser devidas a diferentes origens florais. Os presentes resultados foram semelhantes aos de outros estudos relacionados na literatura (Tabela 16).

Muñoz et al. (2007), em estudos realizados com amostras de méis produzidas em diversas regiões do Chile, encontraram valores de 0 a 8,83 mg GAE 100 g⁻¹ de mel e concluíram que os níveis fenólicos em méis chilenos é relativamente alto.

Tabela 15 - TPC, DPPH, FRAP e CUPRAC de amostras de méis de *Apis mellifera* (amostras, 2011).

Amostras de mel	TPC	DPPH*		FRAP	CUPRAC
	mg GAE*100 g ⁻¹ de mel	RSA% **	IC ₅₀ (mg mL ⁻¹)	TEAC*** _{FRAP} (μmol TE 100 g ⁻¹)	TEAC*** _{CUPRAC} (stras, 2011)μmol TE 100g ⁻¹)
1	41,1 ± 3,5 h	16,7 ± 0,7 e	-	241,6 ± 4,8 h	556,3 ± 22,2 f
2	81,5 ± 2,1 c	20,5±0,9 d	8,2±1,3	563,7 ± 37,0 c	960,1 ± 11,0 a
3	76,0 ± 0,9 d	23,3±0,8 b	12,1±0,2	513,3 ± 23,1d	926,2 ± 9,7 a
4	74,0 ± 3,6 d	7,3±1,2 i	-	302,4 ± 3,4 g	619,8 ± 15,9 e
5	83,0 ± 1,3 b	15,0±0,9 g	14,4±0,1	325,5 ± 7,2 f	595,1 ± 6,2 f
6	43,0 ± 4,4 g	17,0± 0,3 e	-	165,1 ± 17,3 i	462,1 ± 17,4 g
7	40,0 ± 2,1 h	15,6± 0,0 f	-	195,2 ± 8,5 i	453,0 ± 3,8 g
8	27,0 ± 2,3 i	13,1± 0,7 h	-	99,4 ± 3,8 j	338,7 ± 8,45 h
9	51,0 ± 0,8 f	20,6± 0,6 d	12,9±0,04	518,0 ± 10,7 d	628,5± 11,5 e
10	57,0 ± 1,9 e	18,9± 0,1 d	14,5±0,03	392,1 ± 8,6 e	578,1± 32,4 f
11	92,7 ± 2,1 a	21,4±1,7 c	14,4±0,06	347,9 ± 8,4 f	672,9± 17,1d
12	51,0 ± 1,4 f	20,1±0,8 d	12,0±0,05	597,6 ± 19,9 b	730,6 ± 42,5 c
13	46,0 ± 3,4 g	25,9±0,2 a	13,7±0,07	720,4 ± 23,8 a	793,2± 13,7 b
14	51,0 ± 0,4 f	22,4±0,9 c	12,5±0,07	603,6 ± 15,4 b	796,9 ± 46,8 b
15	31,0 ± 1,3 i	17,1±0,9 e	-	181,4 ± 21,6 i	592,8 ± 17,2 f

*Equivalente Acido Gálico. **Percentagem de DPPH* capacidade sequestradora de radical em 30 min. ***TEAC: Capacidade Antioxidante Equivalente Trolox (μmol TEAC 100g⁻¹ mel). ¹Valores são médias±SD (n¼3). Médias com letras diferentes dentro da mesma coluna são significativamente diferentes (p<0.05).

Fonte: Autor, 2013.

Todas as amostras têm capacidade sequestradora de radicais (Tabela 15), com um consumo de DPPH compreendido entre 7,3 e 25,9% em 30 minutos, em comparação com o ácido gálico padrão, que consome 100% do radical. Em méis da Romênia, Al, Daniel et al. (2009) encontraram valores de RSA entre 35,8 a 49,1%, enquanto Baltrusaityte, Venskutonis e Ceksteryte (2007), para méis lituanos, obtiveram variações de 36,5 a 86,90%.

No nosso trabalho, os valores de IC₅₀ de amostras de mel variaram entre 8,2-14,5 ug mL⁻¹, comparáveis aos encontrados na literatura, Italia, Malasia, Tailandia (Tabela 16).

A capacidade de redução das amostras foi avaliada por métodos FRAP e

CUPRAC (Tabela 15). Os valores variaram em FRAP de 99,4 a 720,4 $\mu\text{mol TEAC}$ $\text{mel } 100 \text{ g}^{-1}$ e para CUPRAC entre 338,7 a 960,0 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$. A menor capacidade de redução foi obtida para a amostra nº 8 para ambos os métodos. O maior valor de FRAP foi obtido com a amostra nº 13 seguido das de nº 14 e nº 12. Para CUPRAC, a maior capacidade foi obtida para amostras nº 2-3 e nº 13-14, amostras estas coletadas nos municípios de Ribeira do Amparo (amostras nº 2 e nº 3) e Euclides da Cunha (nº.12, 13 e 14), sendo a caatinga, a vegetação predominante (Tabela 15).

A tabela 16 apresenta os dados de TPC e DPPH realizados em diversos países do mundo.

Analisando a Tabela 16 em relação aos conteúdos de fenóis totais de méis em diversas localidades do mundo, observa-se semelhança dos resultados de méis do Nordeste do Estado da Bahia, com méis da Tailândia (KISHORE et al., 2011), com méis do Brasil (LIANDA et al., 2012). No entanto, os méis estudados por Bertonecelj et al. (2007) em méis da Eslovênia, por Khalil, Alam et al. (2011) em méis da Malásia e por Pichichero et al. (2009), em méis da Itália, apresentaram valores bem inferiores de conteúdos totais de fenóis, em relação ao presente estudo.

Quanto à capacidade sequestradora de radicais, ao comparar os nossos resultados com os relatados por Lianda et al. (2012) e Sant'ana et al. (2012), em méis também do Brasil, observa-se que a capacidade sequestradora de radicais livres dos méis no Nordeste do Estado da Bahia foram superiores. Resultados semelhantes foram constatados por outros autores, Buratti; Benedetti; Cosio (2007) analisaram méis da Itália; Khalil, Alam et al. (2011) estudaram méis da Malásia; Kishore et al. (2011) avaliaram méis da Tailândia. Comparando também os méis do Nordeste do Estado da Bahia com os resultados obtidos por Beretta et al. (2005) em méis da África; Meda et al. (2005a) em méis da África; Bertonecelj et al. (2007), em méis da Eslovênia; Ferreira et al. (2009) em méis de Portugal; Giorgi et al. (2011) em méis da Itália e Pichichero et al. (2009) em méis da Itália, nota-se que os méis analisados neste estudo tiveram maior capacidade sequestradora de radicais livres (Tabela 16).

Tabela 16 - Resultados comparativos de TPC e DPPH entre méis de diversos países

Localidades	TPC (mg *EAG/ 100g de mel) (variação)	DPPH IC ₅₀ (mg mL ⁻¹) (variação)	Referências
Nordeste	27,02 – 92,70	8,2 – 14,5	Presente Trabalho
Brasil	34,0 – 78,2	10,81 – 52,64	Lianda et al. (2012)
Brasil	61,11 – 141,06	10,19 – 83,01	Sant'ana et al. (2012)
Itália	17,1 – 60,00	5,0 – 15,5	Buratti, et. al. (2007)
África	5,25 – 78,96	1,63 – 47,62	Beretta et al. (2005)
África	32,6 – 114,80	1,37 – 29,13	Meda et al. (2005)a
Eslovênia	4,48 – 2414	7,2 - 53,8	Bertoncelj et al. (2007)
Malásia	1,52 – 5,26	4,71 – 18,58	Khalil, Alam et al. (2011)
Tailândia	27,75 – 83,96	5,80 – 10,86	Kishore, et al. (2011)
Portugal	13,22 – 72,78	84,98 – 168,94	Ferreira et al. (2009)
Itália	15,13 – 82,49	11,39 – 64,33	Giorgi et al. (2011)
Itália	6,05 – 27,60	7,08 – 64,09	Pichichero, et al. (2009)

Fonte: Autor, 2013.

4.5 Análise de correlações de mel

Foi demonstrado uma correlação entre os resultados de TPC, DPPH, FRAP e CUPRAC e entre estes com a cor em amostra de mel. A correlação estatisticamente significativa ($p < 0,01$), foi observada entre TPC com CUPRAC (0,55), DPPH com FRAP (0,73) e CUPRAC (0,64) e FRAP com CUPRAC (0,82). Isto sugere que todos os ensaios são indicados para avaliar a capacidade antioxidante em amostras de méis. Além disso, as correlações entre a variável cor com TPC, DPPH, FRAP e CUPRAC foram realizadas. A cor mostrou correlação significativa ($p < 0,01$) com TPC (0,81) e CUPRAC (0,66) (Tabela 17). Curiosamente, as amostras mais claras (nº 8 e nº 15) apresentaram os menores valores de TPC, enquanto as amostras classificadas como âmbar escuro (nº 2, nº 3 e nº 11) apresentaram maior TPC, sugerindo a influência de polifenóis na cor do mel.

A existência de correlações positivas entre a cor de mel e suas propriedades antioxidantes tem sido demonstrada por Zalibera et al., 2008; Gheldof e Engeseth,

2002; Frankel et al.,1998; Khalil, Mahaneem et al. 2011 e Cimpoiu et al., 2012. Estes resultados sugerem que o mel pode ser usado como uma alternativa saudável ao açúcar em muitos produtos, e, assim, servir como uma fonte de antioxidantes.

Tabela 17 - Correlação matrix (Coeficiente de correlação de Person) para determinação quantitativa de 15 amostras de méis de *Apis mellifera* da Bahia.

Variáveis	TPC	DPPH	FRAP	CUPRAC	Cor
TPC	1	0.11	0.32	0.55**	0.81**
DPPH	-	1	0.73**	0.64**	0.29
FRAP	-	-	1	0.82**	0.41
CUPRAC	-	-	-	1	0.66**
Cor	-	-	-	-	1

** Significativo a $p < 0.01$.

Fonte: Autor, 2013.

4.5.1 Análise de trilha

A correlação entre os parâmetros medidos em amostra de mel são apresentados na Tabela 18. Estatisticamente foi observada correlação significativa entre o umidade (0,59), atividade diastásica (0,41) e cor (0,82) com conteúdo de fenóis totais (TPC). Açúcares redutores (0,49) e diastase (-0,47) apresentaram correlação estatisticamente significativa com DPPH. Açúcares redutores (0,52), atividade diastásica (-0,58) e acidez livre (0,70) apresentaram correlação estatisticamente significativa com a FRAP. Acidez livre (0,54) e cor (0,66) apresentaram correlação estatisticamente significativa com CUPRAC.

Tabela 18 - Correlação entre os resultados de fenólicos totais (TPC), FRAP, CUPRAC, DPPH e teor de água (%), minerais (%), açúcares redutores, atividade diastásica, acidez livre, pH e cor das amostras de méis.

Variáveis	Umidade	Minerais	Açúcares redutores	Atividade diastásica	Acidez livre	pH	Cor
TP	0,59*	0,41ns	-0,10ns	0,41ns	0,37ns	0,44ns	0,82**
DPPH	0,09ns	0,04ns	0,49**	-0,47**	0,41ns	-0,12ns	0,29ns
FRAP	0,24ns	0,29ns	0,52*	-0,58**	0,70**	-0,22ns	0,41ns
CUPRAC	0,42ns	0,33ns	0,41ns	-0,24ns	0,54*	0,24ns	0,66**

Intervalo de confiança a 95%, ns. não significativo; * significativo a $p \leq 0.05$; ** significativo a $p \leq 0.01$.

Fonte: Autor, 2013.

A análise de trilha ajuda no desdobramento do coeficiente de correlação em efeitos diretos e indiretos de vários caracteres sobre a atividade antioxidantes ou quaisquer outros atributos (KHAN et al., 2009). Os resultados da análise de trilhas são mostrados na Tabela 19. Observou-se que a acidez livre teve efeitos diretos positivos sobre CUPRAC (0,69) e FRAP (0,46), a cor apresentou efeitos diretos elevados e positivos sobre DPPH (0,96) e TP (0,75), enquanto que o pH apresentou efeito direto elevado e positivo sobre CUPRAC (0,81). Estes resultados realmente confirmam a existência de uma associação entre essas variáveis e as atividades antioxidantes (TP, FRAP, DPPH e CUPRAC). Por outro lado, observou-se que a atividade diastase mostrou efeitos diretos elevados e negativos sobre FRAP (-0,90), DPPH (-0,82) e CUPRAC (-0,54), indicando uma associação inversa entre eles. Estes resultados mostram a importância das variáveis pH, acidez livre e cor na avaliação de amostras de mel em relação às atividades antioxidantes.

Tabela 19 - Análise de trilha mostrando os efeitos diretos e indiretos das variáveis umidade, minerais, açúcares redutores, atividade diastásica, acidez livre, pH e cor sobre CUPRAC, DPPH, FRAP e TPC.

Variável	CUPRAC	DPPH	FRAP	TP
Efeito direto do teor de água	0,3521	-0,2401	0,2541	-0,0266
Efeito indireto via:				
Minerais	0,0286	-0,0025	0,0156	0,0332
Açúcar redutor	0,1187	0,0180	0,0120	-0,1319
Atividade diastásica	0,2652	-0,4040	-0,4418	0,0975
Acidez livre	0,1875	-0,0489	0,1234	-0,0130
pH	0,2297	-0,0143	0,0729	0,0276
Cor	0,0674	0,7780	0,2071	0,6057
Efeito combinado	0,4241	0,0861	0,2434	0,5924
Efeito direto de Minerais	-0,1326	-0,0119	0,0725	0,1542
Efeito indireto via:				
Teor de água	0,0758	-0,0517	0,0547	-0,0057
Açúcar redutor	0,0225	0,0034	0,002	-0,0250
Atividade diastásica	0,0868	-0,1323	-0,1446	0,0319
Acidez livre	0,2210	-0,0576	0,1454	-0,0154
pH	0,2524	-0,0157	0,0802	0,0303
Cor	0,0269	0,3110	0,0828	0,2422
Efeito combinado	0,3343	0,0452	0,2933	0,4125
Efeito direto de Açúcar redutor	0,2260	-0,0342	-0,0228	0,2511
Efeito indireto via:				
Umidade	0,1850	0,1262	-0,1335	0,0140
Minerais	0,0132	0,0012	-0,0072	-0,0153
Atividade diastásica	0,4168	0,6349	0,6942	-0,1531
Acidez livre	0,1584	-0,0413	0,1042	-0,0110
pH	0,2027	0,01261	-0,0644	-0,0244
Cor	0,0178	-0,2057	-0,0548	-0,1602
Efeito combinado	0,4088	0,4937	0,5158	-0,0989
Efeito direto de atividade diastásica	-0,5395	-0,8219	-0,8986	0,1982

Tabela 19 - Análise de trilha mostrando os efeitos diretos e indiretos das variáveis umidade, minerais, açúcares redutores, atividade diastásica, acidez livre, pH e cor sobre CUPRAC, DPPH, FRAP e TPC.

Variável	CUPRAC	DPPH	FRAP	TP
Efeito indireto via:				
Teor de água	0,1731	-0,1181	0,1249	-0,0131
Açucar redutor	0,1746	0,0264	0,0176	-0,1939
Minerais	0,0213	-0,0019	0,0117	0,0248
Acidez livre	0,1139	0,0297	-0,0749	0,0079
pH	0,4009	-0,0249	0,1273	0,0482
Cor	0,0377	0,4356	0,1159	0,3391
Efeito combinado	-0,237	-0,4751	-0,5761	0,4112
Efeito direto de acidez livre	0,6943	-0,1809	0,4570	-0,0483
Efeito indireto via:				
Umidade	0,0951	-0,0648	0,0686	-0,0072
Açúcares redutores	0,0515	-0,0078	-0,0052	0,0573
Minerais	0,0422	0,0038	0,0231	0,0491
Atividade diastásica	0,0885	0,1348	0,1474	-0,0325
pH	0,3898	0,0242	-0,1238	-0,0469
Cor	0,0439	0,5071	0,1350	0,3948
Efeito combinado	0,5414	0,4087	0,7021	0,3663
Efeito direto de pH	0,8132	-0,0506	0,2583	0,0978
Efeito indireto via:				
Umidade	0,0994	-0,0678	0,0718	-0,0075
Açúcares redutores	0,0563	0,0085	0,0057	-0,0626
Minerais	0,0411	-0,0037	0,0225	0,0478
Acidez livre	0,3328	0,0867	-0,2191	0,0231
Atividade diastásica	0,2660	-0,4052	-0,4430	0,0977
Color	0,0270	0,3117	0,0830	0,2426
Efeito combinado	0,2433	-0,1203	-0,2209	0,4390
Efeito direto da Cor	0,0836	0,9646	0,2568	0,7510
Efeito indireto via:				
Umidade	0,2840	-0,1937	0,2050	-0,0215
Açúcares redutores	0,0482	0,0073	0,0048	-0,0535
Minerais	0,0427	-0,0038	0,0234	0,0497

Tabela 19 - Análise de trilha mostrando os efeitos diretos e indiretos das variáveis umidade, minerais, açúcares redutores, atividade diastásica, acidez livre, pH e cor sobre CUPRAC, DPPH, FRAP e TPC.

Variável	CUPRAC	DPPH	FRAP	TP
Acidez livre	0,3650	-0,0951	0,2402	-0,0254
pH	0,2627	-0,0163	0,0834	0,0316
Atividade diastásica	0,2436	-0,3711	-0,4058	0,0895
Efeito combinado	0,6608	0,2918	0,4079	0,8214
Coefficiente de determinação (R ²)	0,9546	0,5661	0,9576	0,7467

Fonte: Autor, 2013.

As amostras foram agrupadas conforme dendograma abaixo (Figura 15). Verifica-se que as 15 amostras foram agrupadas em cinco grupos distintos: grupo 1 com 2 amostras (2 e 3); grupo 2 com 4 amostras (9, 12, 14 e 13); grupo 3 com 3 amostras (1, 6 e 7); grupo 4 com 2 amostras (8 e 15) e grupo 6 com 4 amostras (4, 5, 11 e 10). A proximidade das amostras sugere características físico-químicas semelhantes, tais como aquelas presentes nas amostras dentro de cada grupo formado. Por outro lado, as distâncias entre as amostras indicam diferenças físico-químicas entre as mesmas, tais como as aquelas entre grupos distintos.

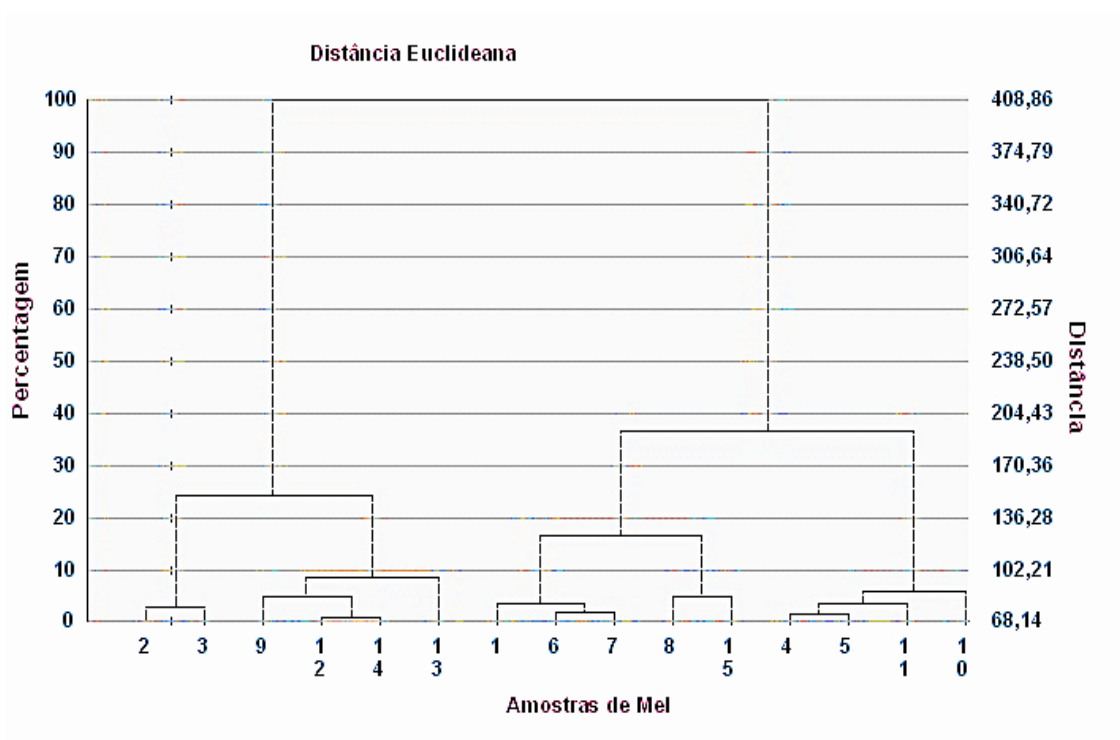
A análise de agrupamento já foi utilizada por Moreti et al. (2009) para estudar amostras de méis do Estado do Ceará, e por Sodré et al. (2011) em amostras de méis do estado do Piauí, contribuindo para verificar que as amostras de mesma origem floral foram agrupadas nos mesmos grupos ou subgrupos.

Neste trabalho, verifica-se no grupo 1 que foram agrupados as amostras de mesma origem, município Ribeira do Amparo, amostras (2 e 3), tiveram em comum, cores mais escuras, pH acima de 4,1, acidez superior a 40 mEq kg⁻¹, alto teor de fenóis totais, alta capacidade antioxidante, estatisticamente superior quando se trata da capacidade antioxidante pelo método FRAP. Observa-se que as amostras classificadas como monoflorais foram agrupadas no mesmo grupo 4, com 2 amostras (8 e 15). Estas mesmas apresentaram em comum cor mais clara e menores atividades antioxidantes. No grupo 5, reuniram-se as amostras da mesma

localidade, município de Euclides da Cunha, vegetação de caatinga que têm em comum alta atividade antioxidante, baixa atividade diastásica e são poliflorais.

Quanto a atividade diastásica White Junior (1994) questionou o uso da atividade diastásica como indicadora de qualidade do mel devido à grande variação na quantidade desta enzima em méis recém-colhidos e não aquecidos. Sugere o autor a exclusão deste parâmetro de qualidade do mel por ser um teste variável e enganoso e White Junior (1992), afirma que os méis produzidos em regiões quentes e secas apresentam menor atividade de enzimas do que os de regiões quentes e úmidas..

Figura 15 - Dendograma obtido por análise de cluster usando a distância Euclidiana média e o método UPGMA para 15 amostras de mel produzido por *Apis mellifera* na Região Nordeste do Estado da Bahia, em relação a características físico-químicas.



Fonte: Autor, 2013.

A contribuição de cada variável para distinção ou formação dos diferentes grupos é apresentada na Tabela 20. Verifica-se que atividade diastásica (21,00%), sólidos insolúveis (14,30%), HMF (12,40%), umidade (11,40%) e número de tipos polínicos (10,5%) foram as que mais contribuíram para diferenciação do agrupamento.

Tabela 20 - Contribuição das variáveis para formação dos diferentes grupos das amostras de mel

Variável	Contribuição (%)
HMF	12,40
Umidade	11,40
Minerais	8,57
Açúcares redutores	0,95
Sacarose aparente	0,95
Atividade diastásica	21,00
Acidez livre	4,76
Sólidos insolúveis	14,30
pH	0,95
Cor	0,95
DPPH	2,86
TPC	1,90
Frap	0,00
Cuprac	2,86
Tipo de pólen	5,71
Nº. pólen	10,5

Fonte: Autor, 2013.

Em relação aos parâmetros antioxidantes e cor, as amostras de mel foram agrupadas conforme dendograma abaixo (Figura 16). Verifica-se que as 15 amostras foram agrupadas em 7 grupos distintos: grupo 1 com 3 amostras (1, 6 e 7); grupo 2 com 5 amostras (9, 12, 14, 10 e 13); grupo 3 com 1 amostra (15); grupo 4 com 2 amostras (5 e 11), o grupo 5 com 1 amostra (4), o grupo 6 com uma amostra (8) e o grupo 7 com 2 amostras (2 e 3).

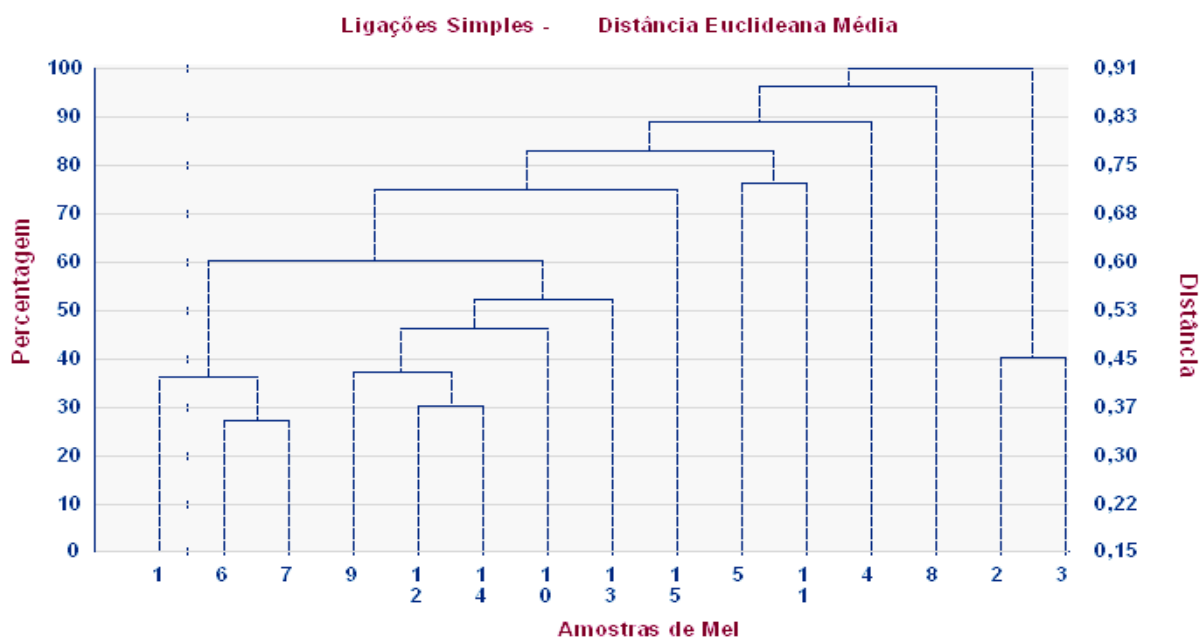
Pela análise dos componentes principais, pode-se verificar que os caracteres que mais influenciaram nos agrupamentos das amostras de méis foram cor (38,1%), TPC (26,7%) e CUPRAC (14,3%).

Observa-se que o grupo formado pelas amostras 5 e 11, possuem a mesma origem, tem em comum os resultados estatisticamente iguais para FRAP, resultados próximos para TPC e CUPRAC. O grupo formado pelas amostras 9, 10, 12, 13 e 14 foi formado por amostras de Euclides da Cunha, Ribeira do Pombal e Tucano (municípios próximos) tem em comum os resultados próximos para TPC, DPPH, FRAP e CUPRAC.

Comparando os dois dendogramas (Figura 15 e Figura 16) e considerando os parâmetros avaliados, dois grupos foram destacados pela análise de agrupamento. As amostras de número 2 e 3 que enquadraram no mesmo grupo, são as melhores amostras, mesma origem, município de Ribeira do Amparo, estatisticamente superiores quanto ao método CUPRAC. As amostras de número 1, 6 e 7 também foram enquadradas no mesmo grupo, são amostras que tem em comum os valores próximos em TPC, DPPH, FRAP e CUPRAC.

Estudos realizados por Marchini et al. (2005), Sodré et al. (2007a), Moreti et al. (2009) e por Sodré et al. (2011) mostraram também a importância da análise de agrupamento para confirmar as origens florais de méis.

Figura 16 - Dendrograma obtido por análise de cluster usando a distância Euclidiana média e o método UPGMA para 15 amostras de mel produzido por *Apis mellifera* na Região Nordeste do Estado da Bahia, em relação a características antioxidantes e cor



Fonte: Autor, 2013.

A contribuição de cada variável para distinção ou formação dos diferentes grupos apresenta-se na Tabela 21. Observa-se que cor (38,1%), TPC (26,7%), CUPRAC (14,3%), FRAP (11,4%), DPPH (9,52%).

Tabela 21 - Contribuição das variáveis para formação dos diferentes grupos das amostras de mel em relação as atividade antioxidantes e cor.

Variável	Contribuição (%)
Cor	38,1
TPC	26,7
FRAP	11,4
CUPRAC	14,3
DPPH	9,52

Fonte: Autor, 2013.

4.6 Própolis

Em relação à própolis, a atividade antioxidante foi avaliada por dois métodos distintos, o radical DPPH[•] e FRAP.

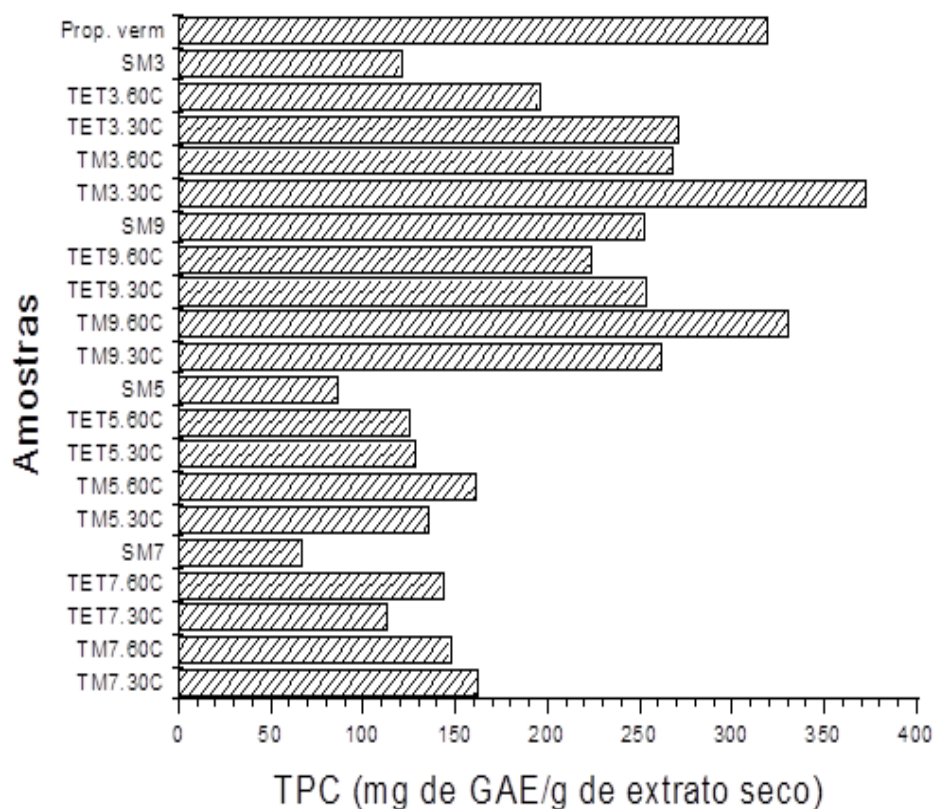
Os valores encontrados para o teor de fenóis total, flavonóides totais e capacidade antioxidante avaliadas pelos métodos DPPH e FRAP foram mais elevados na extração por tintura metanólica ou etanólica em todas as amostras analisadas, quando comparadas à extração por Soxhlet.

Os teores de fenóis encontrados nas amostras variaram entre 66,30 a 372,70 mg GAE g⁻¹ de extrato seco (Figura 17). O maior valor foi para a amostra TM3.30C, sendo que a extração foi por tintura em metanol a 30° C. A amostra SM7, a extração foi com Soxhlet e apresentou menor conteúdo de fenóis 66,30 mg de GAE g⁻¹ de extrato seco.

Cabral et al. (2009) analisando própolis vermelhas do Brasil encontraram 257,98 mg GAE g⁻¹, segundo este mesmo autor, foi o maior valor, até o momento, encontrado em própolis brasileira. No entanto Righi et al. (2011) encontraram valores de 416,31 mg g⁻¹ em análise de própolis vermelhas da região de Maceió, Estado de Alagoas. Cottica et al.(2011) analisando própolis de Maringá, Estado do Paraná encontraram valores semelhantes aos nossos estudos.

Gardana et al. (2007) relataram o conteúdo total de fenóis para própolis da Europa que varia de 2 a 111 mg GAE g⁻¹. Estes mesmos autores, relatam em própolis do Chile, Paraguai, Argentina e Peru valores entre 3 a 55 mg GAE g⁻¹ de conteúdo total de compostos fenólicos. A instrução normativa n 3, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), estabelece compostos fenólicos com um mínimo de 5 % (m/m).

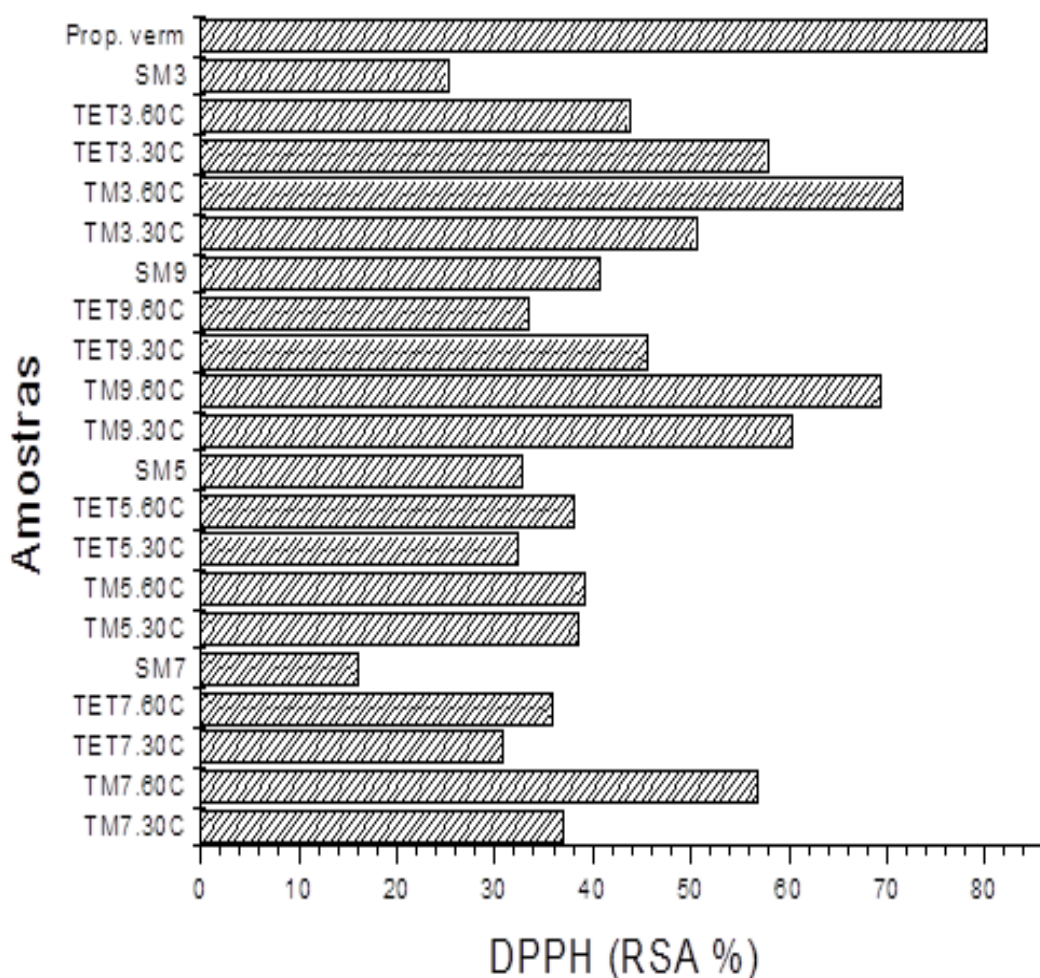
Figura 17 - Fenóis totais de amostras de própolis, abelhas *Apis mellifera* da Região Nordeste do Estado da Bahia.



Fonte: Autor, 2013.

Observou-se que todos os extratos apresentaram atividade antioxidante elevada, em testes envolvendo o radical livre DPPH[•], no entanto, as amostras preparadas como tintura metanólica a 60° C apresentaram melhores resultados, e as amostras 3 e 9 foram as melhores nesta atividade, sendo estas amostras de Ribeira do Pombal e Tucano, municípios da região semi-árida da Bahia (Figura 18).

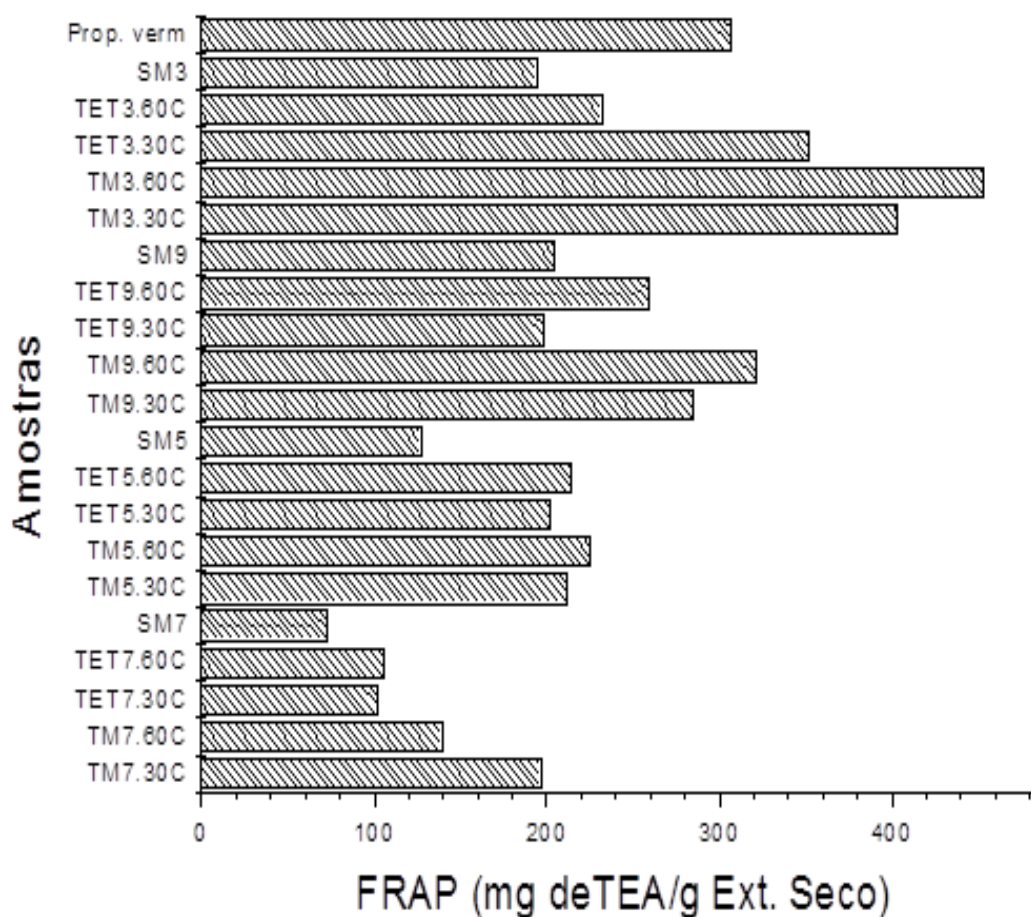
Figura 8 - Atividade sequestradora de radicais DPPH• em amostras de própolis de abelhas, *Apis mellifera* da Região Nordeste do Estado da Bahia.



Fonte: Autor, 2013.

Em relação ao FRAP, todos os extratos apresentaram atividade antioxidante. Os resultados foram entre 72,94 a 453,39 mg de TEA/g de extrato seco de própolis, entretanto, os extratos de própolis em tintura metanólica a 60° C apresentaram maior atividade antioxidante seguida pelos extratos metanólicos a 30° C. As melhores amostras foram as amostras n°. 3 e n° 9. As extrações com Soxhlet apresentaram menores valores para atividade antioxidante neste teste (Figura 19 e Tabela 22).

Figura 9 - Capacidade antioxidante de própolis de abelhas, *Apis mellifera* da Região Nordeste, do Estado da Bahia - Método FRAP



Fonte: Autor, 2013.

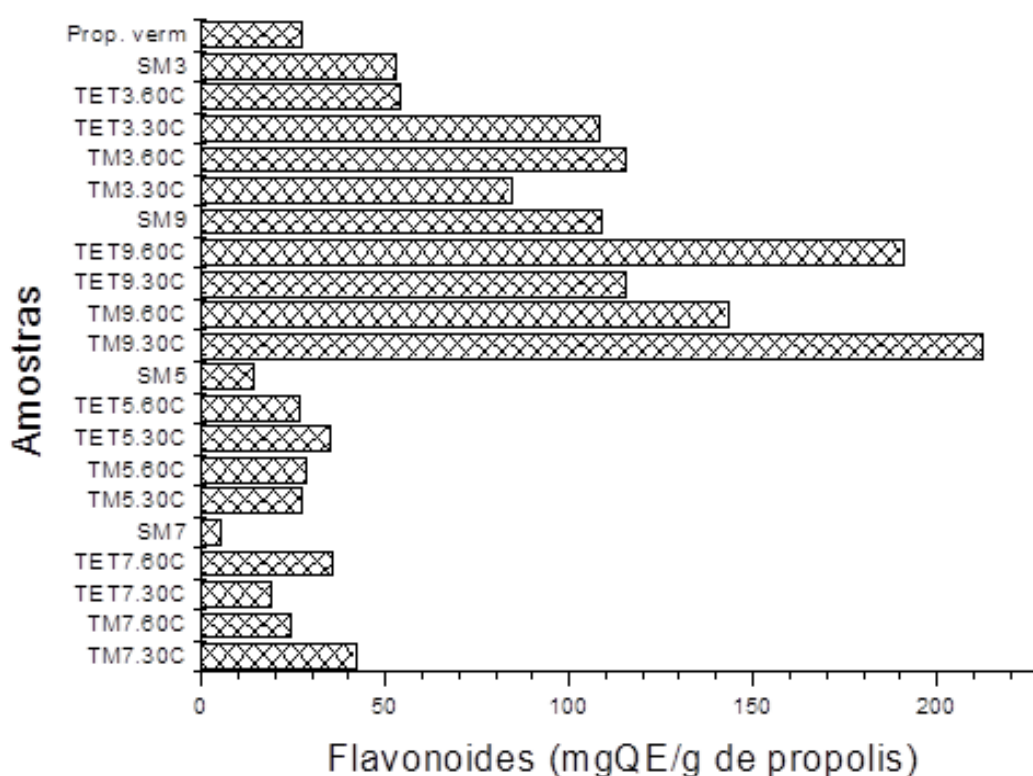
Os teores de flavonóides encontrados nas amostras variaram entre 5,40 a 212,39 mg QE g⁻¹ extrato de própolis (Tabela 22). A amostra TM9.30C apresentou o maior teor de flavonóides (212,39), seguida pela TET9.60C (190,72) mg QE g⁻¹ extrato de própolis.

Gardana et al. (2007), encontraram teores de flavonóides totais para própolis do Brasil de 0,7 a 12,0%, para própolis da Argentina de 3,1 a 19%, para Uruguai de 3,8 a 12,1% e para própolis da França 1,5 a 15 %. Em nosso trabalho os resultados foram semelhantes (0,54 a 21,2%).

Ao considerar o teor de flavonóides totais como índice de qualidade, Gardana et al. (2007) sugerem que a própolis com um teor inferior a 11% deve ser

considerada de baixa qualidade, enquanto que a própolis com um teor de 11 a 14%, 14 a 17% ou > 17% deverá ser classificada como própolis de qualidade aceitável, boa e alta, respectivamente. Entretanto, a instrução normativa n 3, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), classifica a própolis, quanto ao teor de flavonóides em: baixo teor: até 1,0 % (m/m); médio teor: >1,0% - 2,0 % (m/m) e alto teor: >2,0 % (m/m).

Figura 20 - Teor de flavonóides nas amostras de própolis de *A. mellifera* da Região Nordeste do Estado da Bahia



Fonte: Autor, 2013.

A Tabela 22 apresenta o conteúdo total de fenóis, a atividade sequestradora de radicais pelo método DPPH, atividade antioxidante pelo método FRAP e o conteúdo total de flavonóides. Foram 4 amostras de própolis de *Apis mellifera* da Região Nordeste do Estado da Bahia, utilizando quatro métodos de extração: tintura metanólica a temperatura de 30° e 60° C, tintura etanólica a 30° e 60° C e extração com soxhlet, tendo como própolis comparativa a própolis vermelha de Alagoas. As amostras são: TM7.30C, TM7.60C, TET7.30C, TET7.30C, SM7 (amostra de número 7, com extração por tintura, uso de metanol e etanol a temperatura de 30 e 60°C e extração por Soxhlet, a coletada foi no município de Tucano, Bahia, altitude de 414,45 m e vegetação de caatinga. TM5.30C, TM5.60C, TET5.30C, TET5.30C, SM5, amostras de número 5, a coletada foi no município de Jandaíra, Bahia, altitude de 490,00 m e vegetação *Eucaliptos* sp.. TM9.30C, TM9.60C, TET9.30C, TET9.30C, SM9 (amostras de número 9, a coletada foi no município de Tucano, Bahia, altitude de 168,59m e vegetação de caatinga.. TM3.30C, TM3.60C, TET3.30C, TET3.60C, SM3, amostras de número 3, a coletada foi no município de Ribeira do Pombal, Bahia, altitude de 245,50m e vegetação de caatinga.

Tabela 22 - Conteúdo total de flavonóides, fenóis, DPPH e FRAP dos extratos etanólicos e metanólicos de própolis de abelhas *Apis mellifera*.

Amostras	Flavonóides (mg QE/g de ext própolis)	Fenóis (mg de GAE/g de extr. própolis)	DPPH (RSA %)	FRAP (mg de TEA/g Ext. própolis)
TM7.30C	41,8438 h	161,8543 g	37,0165 g	196,2750 j
TM7.60C	24,3081 i	147,3141 h	56,8484 c	139,0350 k
TET7.30C	18,7861 j	113,2455 i	30,9135 g	101,5850 l
TET7.60C	35,6100 h	143,4011 h	35,8285 g	105,8200 l
SM7	5,3975 k	66,3036 k	15,9721 i	72,9370 m
TM5.30C	27,5293 i	135,5919 h	38,6190 f	211,2353 i
TM5.60C	28,5133 i	160,8552 g	39,1172 f	225,1192 h
TET5.30C	34,8567 h	128,6556 i	32,3660 g	201,4122 j
TET5.60C	26,5395 i	124,8166 i	38,0854 f	214,0093 i
SM5	14,1100 j	86,0713 j	32,8256 g	126,9320 k
TM9.30C	212,3933 a	261,5342 c	60,4001 c	284,9456 f
TM9.60C	143,0696 c	330,8249 b	69,3254 b	321,2506 d
TET9.30C	115,3381 d	253,1588 d	45,5316 e	197,8144 j
TET9.60C	190,7253 b	223,7186 e	33,4158 g	258,9277 g
SM9	109,0446 e	252,1412 d	40,6951 f	204,7192 i
TM3.30C	84,1874 f	372,7005 a	50,5260 d	403,0782 b
TM3.60C	115,4568 d	267,6615 c	71,5161 b	453,3936 a
TET3.30C	108,4512 e	271,5396 c	57,8131 c	352,2478 c
TET3.60C	53,9487 g	195,6560 f	43,7170 e	231,7003 h
SM3	52,8049 g	120,6865 i	25,2159 h	193,8522 j
Prop. Vermelha	27,1328 i	319,3326 b	83,4570 a	306,3800 e

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Autor, 2013.

Os resultados da análise estatística mostraram diferenças significativas pelo teste ScottKnott, ao nível de 5% de significância, entre a maioria das amostras. Cinco amostras mostraram melhores resultados para fenóis totais: as amostras: TM3.30 e TM9.60C diferentes estatisticamente, seguida das amostras, TM9.30C, TM3.60C, TET3.30C (iguais estatisticamente). Para os flavonóides totais, as melhores amostras foram: TM9.30C, TET9.60C e TM9.60 (todas diferentes estatisticamente). Para a capacidade antioxidante as melhores amostras foram: Pelo

método FRAP, TM3.60C, TM3.30C, TET3.60, pelo método do DPPH, a amostra própolis vermelha de Maceió seguida da amostra TM3.60C e TET3.30C. As melhores amostras são do município de Tucano, Bahia, com vegetação da caatinga.

A variação quantitativa de flavonóides, fenóis e capacidade antioxidante na própolis é fortemente influenciada pela flora visitada pelas abelhas, região geográfica e fatores edafoclimáticos (BANKOVA, 2005; GÓMEZ-CARAVACA et al., 2006; BERETTA; FERMO; FACINO, 2012). Considerando que a região semi-árida possui uma flora bastante diversificada justifica a variação na composição destes compostos (Tabela 22).

Observa-se uma correlação positiva (Pearson) entre os métodos TFC, TPC, DPPH e FRAP (Tabela 23). A correlação estatisticamente significativa ($p < 0,001$) foi demonstrada entre Flavonóides com Fenóis (0,6340) e FRAP (0,5529), Fenóis com DPPH (0,7686) e FRAP (0,8233), DPPH com (0,7144). Ocorreu uma correlação de Pearson estatisticamente significativa ($P < 0,01$) entre Flavonóides e DPPH (0,3755).

Tabela 23- Correlações de Pearson entre as variáveis Flavonóides, Fenóis, DPPH e FRAP de diferentes amostras de própolis.

	Flavonóides	Fenóis	DPPH	FRAP
Flavonóides	1,00	0,6340**	0,3755*	0,5529**
Fenóis	0,6340**	1,00	0,7686**	0,8233**
DPPH	0,3755*	0,7686**	1,00	0,7144**
FRAP	0,5529**	0,8233**	0,7144**	1,00

*Significativo a 0,01 **Significativo a 0,001

Fonte: Autor, 2013.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo mostrou que amostras de méis da Região Nordeste do Estado da Bahia (Brasil) têm um bom potencial antioxidante. Quanto a origem floral, 28 amostras foram classificadas como polifloral constituída por uma mistura de pólen de espécies de plantas diferentes, enquanto as amostras nº 8 (*Moniliformes Pityrocarpa* (Fabaceae)) e nº 15 (*Eucalyptus* sp. (Mirtaceae)) foram de origem monofloral. O tipo polínico *Myrcia* foi encontrada em 96,67% das amostras investigadas e do tipo *Eucalyptus* estava presente apenas na amostra nº 15. Os parâmetros físico-químicos estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira. Apenas quatro amostras (nº 9, nº 12, nº 13 e nº 14) apresentaram atividade diastásica inadequada. Há uma predominância de cor âmbar para amostras. Amostras de mel com cores âmbar escuras e âmbar apresentaram maior capacidade antioxidante do que o mel de cor clara. Além disso, estes méis foram classificados como poliflorais. Todas as amostras apresentaram teor de fenólicos totais e boa capacidade antioxidante, sendo o mais alto desempenho obtido para as amostras escuras e poliflorais.

Foram encontradas correlações positivas entre teor de fenóis totais, capacidade antioxidante e cor. O aumento da intensidade da cor parece estar relacionado com o aumento da concentração de polifenóis. É importante ressaltar que o mel produzido na Região Nordeste do Estado da Bahia, contribui para o desenvolvimento da economia regional.

Os resultados revelaram que os extratos de própolis apresentaram forte atividade antioxidante, demonstrando a importância das análises para determinação dos teores de fenóis, flavonóides e atividade antioxidante.

Existe grande variação na concentração das atividades antioxidantes, teor de fenóis e flavonóides entre extratos de própolis dependendo do método e da concentração etanólica, metanólica utilizada para extração, esse fato, está intimamente relacionado com a sua origem floral. Conclui-se que para a capacidade antioxidante o melhor extrato foi tintura metanólica a 60° C. Para flavonóides foi tintura metanólica a 30° C e para fenóis foi o extrato com tintura metanólica a 60° C. Os extratos com o uso da tintura metanólica apresentaram melhores resultados.

6 PERSPECTIVAS

- a) Investigar os componentes químicos presentes nas amostras de méis e própolis.
- b) Correlacionar os componentes fitoquímicos com a origem floral.
- c) Aprofundar as pesquisas com os fitoquímicos presentes.

REFERÊNCIAS

ABADIO FINCO, F. D. B.; MOURA, L. L.; SILVA, I. G. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 706-712, 2010.

ABRAMOVIC, H. et al. Water activity and water content in Slovenian honeys. **Food Control.**, v. 19, n. 11, p. 1086-1090, 2008.

AGUIAR, C. M. L.; MARTINS, C. F.; MOURA, A. C. de. Recursos florais utilizados por abelhas (*Hymenoptera*, Apoidea) em áreas de caatinga (São João do Cariri, Paraíba). **Revista Nordestina de Biologia**, v. 10, n. 2, p. 101-117, 1995.

AHN, M-R. et al. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1383-1392, 2007.

AJLOUNI, S.; SUJIRAPINYOKUL, P. Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p.1000-1005, 2010.

AL, M. L. et al. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 863-867, 2009.

ALJADI, A. M.; KAMARUDDIN, M. Y. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. **Food Chemistry**, v. 85, n. 4, p. 513-518, 2004.

ALLSOP, K. A.; MILLER, J. B. Honey revisited : a reappraisal of honey in pre-industrial diets. **Journal Food of Nutrition**, v. 75, n. 4, p. 513-520, 1996.

Al-Mamary, M. et al. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. **Nutrition Research**, v. 22, n. 9, p. 1041-1047, 2002.

ALMEIDA, A. M. M. de. **Flora visitada por *Apis mellifera* L. em Ribeira do Pombal**, Bahia. Salvador: EBDA, 2007.

_____. Pastagem apícola. In: CONGRESSO BAIANO DE APICULTURA, 3., 2005, Vitória da Conquista, **Anais...** Vitória da Conquista, 2005. p. 22-27. (c).

_____. **Plantas visitadas por *Apis mellifera* L. e espectro polínico de amostras de pólen e de mel de Nova Soure, Bahia**. 2005. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, 2005(a).

_____. **Plantas visitadas por *Apis mellifera* L. em Cipó, Bahia**. Monografia (Especialização em Biologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005(b).

_____. et al. Plantas Visitadas por *Apis mellifera* L em Nova Soure, Bahia. **Magistra**, v. 18, p. 152-161, 2006.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de; BERA, A. **Manual de controle de qualidade do mel. São Paulo: APACAME, 2008.**

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 Chemistry Toxicology**, v. 48, n. 8-9, p. 2490-2499, 2010b.

_____. et al. Antioxidant characterization of native monofloral Cuban honeys : research support, Non-U.S. Gov't. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 58, n. 17, p. 9817-9824. 2010a.

ALVES, E. M. et al. Presença de coliformes, bolores e leveduras em amostras de mel orgânico de abelhas africanizadas das ilhas do alto rio Paraná. **Ciência Rural**, v. 39, n. 7, p. 2222-2224, 2009.

ALVES, R. M. de O.; CARVALHO, C. A. L. de. O conhecimento da pastagem apícola. In: CONGRESSO BAIANO DE APICULTURA, 2., 2002, Paulo Afonso. **Anais...** Paulo Afonso, 2002. p.77-81.

ANUPAMA, D.; BHAT, K. K.; SAPNA, V. K. Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. **Food Research International**, v. 36, n. 2, p. 183-191, 2003.

APAK. R.; GÜÇLÜ, K.; ÖZYUREK, M. The main and modified cupric methods of antioxidant measurement. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 652-664, 2011.

_____. et al. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 52, p. 7970-7981, 2004.

ARAÚJO, D. R.; SILVA, R. H. D.; SOUSA, J. S. Avaliação da qualidade físico-química do mel comercializado na cidade de Crato, CE. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 1, p. 51-55, jan./jun. 2006.

ARRUDA, C. M. F. et al. Características físico-químicas de méis da Chapada do Araripe/Santana do Cariri-Ceará. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 27, n.1, p.171-176, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis AOAC International**. 16. ed. rev. Washington, 1998.

AZEREDO, L. D. C. et al. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. **Food Chemistry**, v. 80, p. 249-254, 2003.

BAHIA. Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária. **Sistema de produção de apicultura para o estado da Bahia: mel**. Salvador:SEAGRI, 2000.

BALTRUSAITYTE, V.; VENSKUTONIS, P. R.; CEKSTERYTE, V. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 502-514, 2007.

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, p. 114-117, 2005.

_____; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Recent progress in pharmacological research of propolis. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 561-571, 2001.

BARHATE, R. S. et al. Processing of honey using polymeric microfiltration and ultrafiltration membranes. **Journal of Food Engineering**, v. 60, n.1, p. 49-54, 2003.

BARONI, M. V. et al. Determination of volatile organic compound patterns characteristic of five unifloral honey by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry coupled to chemometrics. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 54, n. 19, p. 7235-7241, 2006.

BARTH, F.G. **Insects and flowers: the biology of a partnership**. Princeton: Princeton University Press, 1991.

BARTH, O. M. Análise polínica de mel: avaliação de dados e seu significado. **Mensagem Doce**, v. 81, p. 2-6, 2005.

_____. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 2, p.342-350, 2004.

_____. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Luxor, 1989.

_____. et al. Determinação de parâmetros físico-químicos e da origem botânica de méis indicados monoflorais do sudeste do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 229-233, 2005.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Food chemistry**. New York: Springer, 1999. Draft report of 24th session, Geneva.

BENDINI, J. D. N.; SOUZA, D. C. Caracterização físico-química do mel de abelhas proveniente da florada do cajueiro. **Ciência Rural**, v. 38, p. 565-567, 2008.

BERETTA, G.; FERMO, P.; FACINO, R. M. Simple and rapid simultaneous profiling of minor components of honey by size exclusion chromatography (SEC) coupled to ultraviolet diode array detection (UV-DAD), combined with chemometric methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 58, p. 193-199, 2012.

BERETTA, G. et al. R. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 533, n. 2, p. 185-191, 2005.

BERTONCELJ, J. et al. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 822-828, 2007.

_____. et al. LC-DAD-ESI/MS analysis of flavonoids and abscisic acid with chemometric approach for the classification of Slovenian honey. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 296- 302, 2011.

BOGDANOV, S. Honey composition. In: **BROOK of honey: bee product science**, 2009. p. 11-13.

_____. et al. Honey as nutrient and functional food : a review. **J. Am. Coll. Nutr.** v. 27, n. 6, p. 677-689, Dec. 2008.

BOGDANOV, S.; RUOFF, K.; ODDO, L. P. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. **Apidologie**, v. 35, p. 4-17, 2004.

BORSATO, D. M. et al. Physicochemical quality control of bee honeys from Campos Gerais Region of Paraná – Brazil. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 28, n.2, p. 205-212, 2010.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria SIPA n. 367 de 04 de setembro de 1997. Normas higiênico-sanitárias e tecnológicas para mel, cera de abelhas e derivados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 8 set. 1997., Seção1, p.19696.

_____. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 3 de 19 de janeiro de 2001. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 19 jan. 2001.

_____. Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 out. 2000. Seção I, p. 16-17

BRUDZYNSKI, K.; KIM, L. Storage-induced chemical changes in active components of honey de-regulate its antibacterial activity. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1155-1163, 2011.

BURATTI, S.; BENEDETTI, S.; COSIO, M. S. Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. **Talanta**, v. 71, n.3, p. 1387-1392, 2007.

CABRAL, I. S. R. et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, p. 1523-1527, 2009.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Official methods of analysis**. Rome, 1990. v.3, supl.2, p. 15-39.

CANO, C. B. et al. Comparison of methods for determining moisture content of citrus and eucalyptus Brazilian honeys by refractometry. **Journal of Food Composition Analysis**, v. 14, p. 101-109, 2001.

CANTARELLI, M. A. et al. Quality of honey from Argentina: Study of chemical composition and trace elements. The **Journal of the Argentine Chemical Society**, v. 96, n. 1-2, p. 33-41, 2008.

CARVALHO, C. A. L. de.; MARCHINI, L. C.; ROS, P. B. Fontes de pólen utilizadas por *Apis mellifera* L. e algumas espécies de Trigonini (Apidae) em Piracicaba (SP) **Bragantia**, v. 58, n. 1, p. 49-56, 1999.

_____; ALVES, R. M. O.; SOUZA, B. A. **Criação de abelhas sem ferrão: contribuição para caracterização físico-química**. Cruz das Almas: UFBA; SEAGRI-BA, 2005, 32p. (Serie Meliponicultura, 4).

CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C. Plantas visitadas por *Apis mellifera* L. no Vale do rio Paraguaçu, Município de Castro Alves, Bahia. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n.2(suplemento), p. 333-338, out.1999.

_____. et al. Comportamento forrageiro de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em flores de *Solanum Paniculatum Dunal* (Solanaceae). **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 3, p. 35-44, 2001.

CASTRO, M. S. de. **Composição, fenologia e visita às flores pelas espécies de Apidae em um ecossistema de caatinga**. 1994. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

CASTRO-VÁZQUEZ, L. M. C. DÍAZ-MAROTO, C. T.; PÉREZ-COELLO, M. S. Effect of geographical origin on the chemical and sensory characteristics of chestnut honeys. **Food Research International**, v. 43, n. 10, p. 2335-2340, 2010.

CAVALCANTI, C. (Org). **Meio ambiente, desenvolvimento sustentável e políticas públicas**. 4. ed. São Paulo, 2002, 436 p.

CICCO, N. et al. V. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. **Microchemical Journal**, v. 91, p. 107-110, 2009.

CIMPOIU, C. et al. A. Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. **Spectrochimica Acta, Part A. Mol. Biomol. Spectrosc.**, Kidlington, v. 100, p. 149-154, Jan. 2013. ISSN 1386-1425.

CORBELLA, E.; COZZOLINO, D. Classification of the floral origin of Uruguayan honeys by chemical and physical characteristics combined with chemometrics. **LWT:Food Science and Technology**, v. 39, n. 5, p. 534-539, 2006. ISSN 0023-6438.

CORNEJO, L. G. Tecnologia de miel. In: SEEMANN, P.; NEIRA, M. (Ed.). **Tecnología de la producción apícola**. Valdivia: Universidad Austral de Chile, 1988. p.145-171.

COSTA, J. B. de A. **Fontes de pólen utilizadas por operárias de *Apis mellifera* L. no município de Cruz das Almas, Bahia**. 2002. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2002.

COSTA, L. S. M. et al. Determination of non-volatile compounds of different botanical origin Brazilian honeys. **Food Chemistry**, v. 65, p. 347-352, 1999.

COTTE, J. F. et al. Characterization of honey amino acid profiles using high-pressure liquid chromatography to control authenticity. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 378, p. 1342-1350, 2004.

COTTICA, S. M. et al. Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 929-935, 2011.

CRANE, E. Physical characteristics of honey. In: _____. (Ed.). **Honey: a comprehensive survey**. London: Heinemann, 1975. p. 207-239.

CRANE, E. **Livro do mel**. Tradução de Astrid Kleinert Giovannini. São Paulo: Nobel, 1983. 226p.

DAELLEN-BACH, K. K. The use of honeybee. **Gleanings in Bee Culture**, v. 109, n. 10, p. 530-531, 1981.

D'ARCY, B. R. et al. Composition of Australian honey extractives: 1. norisoprenoids, monoterpenes, and other natural volatiles from blue gum (*Eucalyptus leucoxylon*) and yellow box (*Eucalyptus melliodora*) Honeys. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 1834-1843, 1997.

DEVILLERS, J. et. al. Classification of monofloral honeys based on their quality control data. **Food Chemistry**, v. 86, p. 305-312, 2004.

DINKO DINKOV. A. scientific note on the specific optical rotation of three honey types from Bulgaria. **Apidologie**, v. 34, p. 319-320, 2003.

DOWNES, F. P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2001.

DOWNEY, G. et. al. Preliminary contribution to the characterisation of artisanal honey produced on the island of Ireland by palynological and physico-chemical data. **Food Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 347-354, 2005.

ERDTMAN, G. The acetolysis method: a revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, v. 54, p. 561-564, 1960.

_____. **Pollen morphology and plant taxonomy: angiosperms**. Stockholm: Almqvist e Wiksell, 1952.

ESTEVINHO, L. et al. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 12, p. 3774-3779, 2008.

_____. et al. Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 2, p. 258-264, 2012.

ESTI, M. et al. Valorization of the honeys from the Molise region through physico-chemical, organoleptic and nutritional assessment. **Food Chemistry**, v. 58, n. 1/2, p. 125-128, 1997.

EVANGELISTA-RODRIGUES A, 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, p. 1166-71, 2005.

FAEGRI, K.; PIJL, L. van der. **The principles of pollination ecology**. Ney York: Pergamon Press, 1976. 291p.

FALLICO, B. et al. Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. **Food Chemistry**, v. 85, p. 205-313, 2004.

FEÁS, X. et al. Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. **Food Chem Toxicol**, v. 48, n. 12, p. 3462-3470, 2010.

FERREIRA, I. C. F. R. et al. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1438-1443, 2009.

FINOLA, M. S.; LASAGNO, M. C.; MARIOLI, J. M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1649-1653, 2007.

FRANKEL, S.; Robinson, G. E.; Berenbaum, M. R. Antioxidant content and correlated characteristics of 14 monofloral honeys. **J. Apic. Res.**, v. 37, p. 27-31.1998.

FREE, J. B. **Insect pollination of crops**. London: Academic Press, 1993. 164p.

FREITAS, B. M. Caracterização e fluxo de néctar e pólen na Caatinga do Nordeste. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA. 11. 1996, Teresina. **Anais....** Teresina: Confederação Brasileira de Apicultura, 1996. p. 181-185.

_____. A Importância das abelhas na manutenção da biodiversidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13., 2000, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2000. CD Room.

_____. Fatores que influenciam na eficiência polinizadora das abelhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 12., 1998. Salvador. **Anais...** Salvador, 1998. CD Room.

FREITAS, B. M. **Potencial da caatinga para a produção de pólen e néctar para a exploração apícola.** 1991. 140 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura) - Universidade Federal do Ceará. 1991.

FREITAS, B. M. Pollen identification of pollen and nectar loads collected by Africanized honey bees in the state of Ceará, Brazil. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON APICULTURE IN TROPICAL CLIMATES, 15., 1994, Cardiff. **Proceedings ...** Cardiff: IBRA, 1994. p. 73-79.

FRIAS, I.; HARDISSON, A. Estudio de los parámetros analíticos de interés en la miel. II: Azúcares, cenizas y contenido mineral y color. **Alimentaria**, v. 28, n. 235, p. 41-43, 1992.

GARDANA, C. et al. Analysis of the polyphenolic fraction of propolis from different sources by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, n. 3, p. 390-399, 2007.

GHELDOLF, N.; ENGESETH, N.J. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 10, p. 3050-3055, 2002.

GHELDOLF, N.; WANG, X.H.; ENGESETH, N. 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.

GIORGI, A. et al. The Relationships between Phenolic Content, Pollen Diversity, Physicochemical Information and Radical Scavenging Activity in Honey. **Molecules**, Basel, v. 16, n. 1, p. 336-347, 2011.

GIOVANELLI, G.; BURATTI, S. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 903-908, 2009.

GOMES, S. et al. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 2, p. 544-548, 2010.

GÓMEZ-CARAVACA, A. M. et al. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 4, p. 1220-34, jun. 2006.

HORN, H.; Alunos da disciplina análise de mel da Universidade de Hoheinheim, Alemanha. Méis brasileiros: resultados de análises físico-químicas e palinológicas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11., 1996, Teresina. **Anais...** Teresina: Confederação Brasileira de Apicultura, 1996. p. 403-429.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

HUSSEIN, S. Z. et al. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. **Molecules**, Basel, v. 16, n. 8, p. 6378-6395, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção Pecuária Municipal**: 2006, 2007, 2009, 2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10 fev. 2013.

ISLA, M. I. et al. Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. **LWT. Food Science and Technology**, v. 44, n. 9, p.1922–1930, 2011.

IWAMA S.; MELHEM T. S. The pollen spectrum of the honey of *Tetragonisca angustula angustula* Latrelle (Apidae, Meliponinae). **Apidologie**, v. 10, p. 275-295, 1979.

JANZEN, D. H. **Ecologia vegetal nos trópicos**. São Paulo: EDUSP, 1980.. (Temas de biologia, 7).

JANZOWSKI, C. et al. 5-Hydroxymethylfurfural: assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione. **Food and Chemical Toxicology**, Zurich, v. 38, p. 801-809, 2000.

JOSHI, S. R. et al. Physico-chemical characteristics of *Apis dorsata*, *A. cerana* and *A. mellifera* honey from Chitwan district, central Nepal. **Apidologie**, v. 31, p. 367-375, 2000.

KAČÁNIOVÁ, M. et al. Microbiological and physic – chemical quality of honey collected from different Slovak habitats. **Slovak Journal Animal Science**, v. 40, n. 1, p. 38-43, 2007.

KAHRAMAN, T. et al. Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. **Food Chemistry**, v. 123, n. 1, p. 41-44, 2010.

KERR, W. E.; NASCIMENTO, V. A.; CARVALHO, G. A. Há salvação para os Meliponíneos? In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 1., 1994, Ribeirão Preto. **Anais....** Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 1994, p. 60-65.

KHALIL, M. I.; SULAIMAN, S. A.; GAN, S. H. High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8-9, p. 2388-2392, 2010.

_____. et al. Evaluation of radical scavenging activity and colour intensity of nine Malaysian honeys of different origin. **IBRA**, v. 3, p. 4-11, 2011.

_____. et al. Phenolic Acid Composition and Antioxidant Properties of Malaysian Honeys. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 921-928, 2011.

_____. et al. Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. **Molecules**, Basel, v. 17, n.9, p. 11199-11215, 2012.

KHAN, A., KABIR, M.Y., ALAM, M.M., Variability correlation path analysis of yield and yield components of pointed gourd. **J. Agr. Rural Dev. Trop.**, v. 7, p. 93-98, 2009.

KISHORE, R. K. et. al. S. Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources. **Nutrition Research**, v. 31, n. 4, p. 322-325, 2011.

KÜÇÜK, M. et. al. F. Biological activities of three different Turkish honey. **Food Chemistry**, v. 100, p. 526-534, 2007.

LACERDA, J. J. D. J. et. al. Influência das características físico-químicas e composição elementar nas cores de méis produzidos por *Apis mellifera* no sudoeste da Bahia utilizando análise multivariada. **Química Nova**, v. 33, p.1022-1026, 2010.

LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. cap. 3, p. 27-31.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 1390-1393, 1997.

LEJA, M. et. al. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. **Food Chemistry**, v. 100, p. 237-240, 2007.

LEGLER, S. **Inspeção e controle de qualidade do mel**. Disponível em: <http://www.sebraern.com.br/agricultura/pesquisas/inspeção_mel01.doc>. Acesso em: 12 mar. 2013.

LIANDA, R. L. P. et al. Antioxidant activity and phenolic composition of Brazilian honeys and their extracts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 4, p. 618-627, 2012.

LIANDA, R. L. P.; CASTRO, R. N. Isolamento e identificação da morina em mel brasileiro de *Apis mellifera*. **Química Nova**, v. 31, p. 1472-1475, 2008.

LIMA, A. O. N. **Pólen coletado por abelhas africanizadas em apiário comercial na caatinga cearense**, 1995. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1995.

LIMA, M. S.; SOUZA, R. A. de. Flora apícola tem muita: um estudo sobre flora apícola de Ouricuri, PE. Ouricuri: Caatinga, 1992.

LOREZON, M. C. A.; MATRAGNOLO, C. A. R.; SCHOEREDER, J. H. Flora visitada pelas abelhas eussociais (Hymenoptera, Apidae) na serra da Capivara, em caatinga do sul do Piauí. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 1, 2003.

LOUISE, J. K.; DURLING, L. F. B.; BJÖRN, E. H. Evaluation of the DNA damaging effect of the heat-induced food toxicant 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in various cell lines with different activities of sulfotransferases. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 47, p. 880-884, 2009.

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A. ; VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. **Bee World**, Gerrards Cross, v. 59, n. 4, p. 139-157, 1978.

MAPAS geográficos do Brasil. Disponível em: <<http://www.baixarmapas.com.br/mapa/mapa-do-brasil>>. Acesso em: 22 fev. 2013.

MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. D. C. C.; OTSUK, I. P. Análise de agrupamento, com base na composição físico-química, de amostras de méis produzidos por *Apis mellifera* L. no Estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 8-17, 2005.

_____; SODRÉ, G. S.; MORETI, A. C. C. C. **Mel brasileiro: composição e normas**. Ribeirão Preto, 2004. a

MARCHINI, L. C. et. al. Composição físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* L. do estado do Tocantins, Brasil. **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 61, n. 2, p. 101-114, 2004.b

MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, v. 19, n. 5, p. 529-36, 1996.

MARTINS, C. F. **Estrutura da comunidade de abelhas (Hymenoptera - Apoidea) na caatinga (Casa Nova, BA) e na Chapada Diamantina (Lençóis, BA)**, 1990. 139f. Tese (Doutorado em Biologia) - Universidade de São Paulo São Paulo, 1990.

MAURIZIO, A. How bees make honey. In: CRANE, E. (Ed.). **Honey: a comprehensive survey**. London: Heinemann, 1975. p. 77-105.

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**, Barking, v. 91, n. 3, p. 571-577, 2005. ISSN 0308-8146.(a).

MEDA, A. et. al. t. al. Physicochemical Analyses of Burkuna Fasan honey. **Acta Veterinária Brasileira**, v.74, p.147-152, 2005. ISSN 1947-5535. (b).

MENDES, E. et. al. Quality evaluation of Portuguese honey. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, p. 219-223, 1998. ISSN 0144-8617.

MENDONÇA, K. et. al. Caracterização físico-química de amostras de méis produzidas por *Apis mellifera* L. em fragmento de cerrado no município de Itirapina, São Paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1748-1753, 2008.

MOHAMED, M. et. al. Studies on the antioxidant properties of Tualang honey of Malaysia. **Afr. J. Tradit. Complem. Altern. Med.**, 11e-1fev, 7, n.1, p. 59-63, 2009. ISSN 1089-6016.

MORETI, A. C. de C. C. et. al. Características físico-químicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L. do estado do Ceará, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 191-199, 2009.

_____. et. al. Espectro polínico de amostras de mel de *Apis mellifera* L.: coletadas na Bahia. **Bragantia**, v. 59, n. 1, p. 1-6, 2000.

MUÑOZ, O. et. al. Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante. **Química Nova**, v. 30, n. 4. p. 848-851, 2007.

NANDA, V. et al. Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, n. 5, p. 613-619, 2003.

NUNES C. G. F. **Identificação de plantas apícolas do campus da ESAM, Mossoró- RN, durante os meses de maio e junho de 1994**. 13 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 1994.

ODEH, I. et al. A variety of volatile compounds as markers in Palestinian honey from *Thymus capitatus*, *Thymelaea hirsuta*, and *Tolpis virgata*. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1393-1397, 2007.

OLIVEIRA, A. C. de. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, p. 689-702, 2009.

ÖZCAN, M.; ARSLAN, D.; ALI CEYLAN, D. Effect of inverted saccharose on some properties of honey. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, 24-29, 2006.

PARK, Y. K. et. al. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. **Arq. Biol. Technol.**, v. 38, p. 1253-1259, 1995.

_____. et al. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciênc. Technol. Aliment.** v. 18, n. 3 Campinas, 1998.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. Própolis 100 anos de pesquisa e suas propriedades futuras. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, p. 321-326, 2002.

PEREIRA, R. M. A. et al. Estudos fenológicos de algumas espécies lenhosas e herbáceas da caatinga. **Ciência Agronômica**, v. 20, n. 112, p. 11-20. 1989.

PICHICHERO, E.; CANUTI, L.; CANINI, A. Characterisation of the phenolic and flavonoid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 4, p. 609-616, 2009.

PINTO, M. S. et al. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Braz. J. Vet. Sci.**, v. 38, n.6, São Paulo, 2001. ISSN 1413-9596. doi.org/10.1590/S1413-95962001000600006.

PIRES, R. M. C. **Qualidade do mel de abelhas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 produzido no Piauí**. 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

POPEK, S. A procedure to identify a honey type. **Food Chemistry**, v. 79, p. 401-406, 2002.

PYRZYNSKA, K.; BIESAGA, M. Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, 7, p. 893- 902, 2009.

REHMAN, S. U.; KHAN, Z. F.; MAQBOOL, T. Physical and spectroscopic characterization of Pakistani honey. **Ciencia invetigacion agrária**, v. 35, n. 2, p. 199-204, 2008.

ROCHA, W. F. et al. Levantamento da cobertura vegetal e do uso do solo do Bioma Caatinga. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 13., 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: INPE, 2007. p. 2629-2636.

RODRIGUES, A. E. et al. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no estado da Paraíba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n.5, p.1166-1171, 2005.

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

RUFINO, M. do S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. 4p. (Embrapa Agroindústria Tropical. **Comunicado Técnico**, 125) Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/cot_125.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2011.

SÁNCHEZ-MORENO, C. et al. Free radical scavenger capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grapes juices and related polyphenolic constituents. **Food Research International**, Ottawa, v. 32, n. 6, p. 407-412, 1999.

SALINAS, F.; ESPINOSA-MANSILLA, A.; BERZAS-VEVADO, J. J. Flow-injection determination of HMF in honey by Winkler method. **Journal analytical Chemistry**, Ney York, v. 340, p. 250-252, 1991.

SANT'ANA, L. D. et al. Characterization of monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity **J. Food Sci.** v. 77, p. 135, 2012.

SANTOS, F. A. R. et al. Plantas do semi-árido importantes para as abelhas. In: _____. (Ed.), **Apium plantae**. Recife: Instituto do Milênio do Semi-Árido, 2006. v. 3, p. 61-86.

SANTOS, L. O. dos. et al. **Avaliação microbiológica do pólen apícola comercializado no Estado de São Paulo**. 2010. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/pibic/anais/2010/Artigos/RE10215.pdf>>. Acesso em: 31 jul. 2011.

SANTOS JÚNIOR, M. C.; SANTOS, F. de A. R. dos. Espectro polínico de amostras de méis coletadas na microrregião do Paraguaçu, Bahia. **Magistra**, v. 15, n. 1, p. 79-85, 2003. Série especial.

SARIKAYA, A. O. et al. Antioxidant activity and phenolic acid constituents of chestnut (*Castanea Sativa* Mill.) honey and propolis. **Journal of Food Biochemistry**, v. 33, n. 4, p. 470-481, 2009.

SAWAYA, A. C. H. F.; CUNHA, I. B. da S.; MARCUCCI, M. C. Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. **Chemistry Central Journal**, v. 5, n. 1, p. 27, 2011.

SAXENA, S.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Microbial decontamination of honey of indian origin using gamma radiation and its biochemical and organoleptic properties. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, p. M19-M27, 2010.(a)

_____; _____. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. **Food Chemistry**, v. 118, n. 2, p. 391-397, 2010.(b)

SCHRAMM, D. D. et al. Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 6, p. 1732-1735, 2003.

SEEMANN, P.; NEIRA, M. **Tecnología de a producción apícola**. Valdivia: Universidad Austral de Chile, 1988. 202 p.

SILICI, S.; SAGDIC, O.; EKICI, L. Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 238- 43, 2010.

SILVA, C. L.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F. Caracterização físico-química de méis produzidos no estado do Piauí para diferentes floradas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 8, n. 2/3, p. 260-265, 2004.

SILVA, L. R. et al. Honey from Luso region (Portugal): physicochemical characteristics and mineral contents. **Microchemical Journal**, v. 93, p. 73-77, 2009.

SILVA, M. B. L. da. et al. Qualidade microbiológica de méis produzidos por pequenos apicultores e de méis de entrepostos registrados no Serviço de Inspeção Federal no estado de Minas Gerais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 417-420, 2008.

SILVA, N. da. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010. 624 p.

SILVA, R. A. **Caracterização da flora apícola e do mel produzido por *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae) no estado da Paraíba**. 2006. 99 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal da Paraíba, 2006.

_____. et al. Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 17, n. 1, p. 113-120, jan./mar. 2008.

SODRÉ, G. da S.; MARCHINI, L. C.; CARVALHO, C. A. L. Características físico-químicas de amostras de méis . de abelha *Apis mellifera* da região litoral norte do Estado da Bahia. **Revista de Agricultura**, v. 77, n. 2, p. 243-256, 2002.

_____. et al. Análises multivariadas com base nas características físico-químicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) da região litoral norte da Bahia. **Archivo Latinoamericano de Produção Animal**, v. 11, n. 3, p. 129-137, 2003.

_____. et al. Análises polínicas de méis de *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae) do litoral norte do estado da Bahia. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 76, n. 2, p.215-225, 2001.

_____. et al. Caracterização físicoquímica de amostras de méis de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) do Estado do Ceará. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1139-1144, 2007.(a).

_____. et al. Conteúdo microbiológico de méis de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) dos Estados do Ceará e Piauí. **Boletim de Indústria Animal**, v. 64, n. 1, p. 39-42, 2007(b).

SODRÉ, G. da S. et al. Minerais encontrados em amostras de méis de *Apis mellifera* africanizada (Hymenoptera: Apidae) provenientes de alguns municípios do estado do Ceará. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 62, n. 1, p. 9-18, 2005.

_____. et al. Physico-chemical characteristics of honey produced by *Apis mellifera* in the Picos region, state of Piauí, Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 183-1843, 2011.

_____. et al. Tipos polínicos encontrados em amostras de méis de *Apis mellifera* em Picos, estado do Piauí. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 839-842, 2008.

SOMER, P. G. Apicultura como alternativa de renda e manejo de abelhas africanizadas em casa apiário: In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA,

14., 2002, Campo Grande. **Palestra...** Campo Grande: Federação das Associações de Apicultores de Mato Grosso do Sul , 2002.

SORIA, A. C. et al. Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. **Food Chemistry**, v. 85, p. 121-130, 2004.

SOUSA, E. A. et.al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

_____. et al. Propriedade físico-química da própolis em função da sazonalidade e método de produção. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, p. 571-576, 2010

STEPHENS, J. M. et al. Phenolic compounds and methylglyoxal in some New Zealand manuka and kanuka honeys. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 78-86, 2010.

TCHOUMBOUE, J. H. et al. Physico-chemical and microbiological characteristics of honey from the sudano-guinean zone of West Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, v.6/7, p.908-913, 2007.

TERRAB, A.; DIEZ, M. J.; HEREDIA, F.J. Characterisation of moroccan unifloral honeys by their physicochemical Characteristics. **Food Chemistry**, v. 79, p.373-379, 2002.

TOSI, E. et. al. Honey diastase activity modified by heating. **Food Chemistry**, v. 106, p. 883-887, 2008.

TUBEROSO, C. I. G. et. al. Lumichrome and phenyllactic acid as chemical markers of thistle (*Galactites tomentosa* Moench) honey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 1, 364-369, 2010.

ULUSOY, E.; KOLAYLI, S.; SARIKAYA, A. O. Antioxidant and antimicrobial activity of different floral origin honeys from turkiye. **Journal of Food Biochemistry**, v. 34, p. 321-335, 2010.

VASCONCELOS, S. M. L.; SILVA, A. M.; GOULART, M. O. F. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função Low molecular weight pro-antioxidants and antioxidants from diet: structure and function. **Nutrire**, v. 31, p. 95, 2006.

VERÍSSIMO, M. T. L. Saiba o que é o HMF. **Apicultura no Brasil**, v. 4, n. 24, p. 31, 1988.

VIANA, B. F. ET al. Plantas visitadas por *Apis mellifera* L. em ecossistemas de relevância ecológica do Estado da Bahia. In: ENCONTRO ESTADUAL DE APICULTURA, 8., 2003. Cruz das Almas, **Anais...** Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia, 2003. p. 56-64.

VILHENA, F.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Análises físico-químicas de méis de São Paulo. **Mensagem Doce**, v. 53, p. 17-19, 1999.

VOGEL, H. et. al. Antioxidant properties and TLC characterization of four Chilean *haplopappus*-species known as bailahue'n. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n.1, p.97-100, 2004.

VOIDAROU, C. et. al. Antibacterial activity of different honeys against pathogenic bacteria. **Anaerobe**, v. 17, n. 6, p. 375-379, 2011.

WANG, J.; LI, Q. X. Chemical composition, characterization, and differentiation of honey botanical and geographical origins. In: STEVE, L. T. (Ed.). **Advances in food and nutrition research**, 2011. v. 62, p. 89-137.

WELKE, J. E. et al. Caracterização físico-química de méis de *Apis mellifera* L. da região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1737-1741, set. 2008.

WHITE JÚNIOR, J. W. Composition of honey. In: CRANE, E. (Ed.). **Honey a comprehensive survey**. London: Heinemann, 1976. p.157-206.

_____. The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. **American Bee Journal**, v. 75, n. 3, p. 104-107, 1994.

_____. Quality evaluation of honey: role of HMF and diastase assays. **American Bee Journal**, v. 132, n. 12, p. 792-794, 1992.

WOISKY, R.G. do Rio. **Métodos de controle químico de amostras de própolis**. São Paulo. 1996. 74 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade de São Paulo, 1996.

ZALIBERA, M. et al. Antioxidant and radical-scavenging activities of Slovak honeys - An electron paramagnetic resonance study. **Food Chemistry**, v. 110, n. 2, p. 512-521, 2008.