

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**QUALIDADE DO MEL DE *Apis mellifera* L. PRODUZIDO NA REGIÃO DO PÓLO
CUESTA, ESTADO DE SÃO PAULO**

KAREN FRANCO DE GODOI CARDOSO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

BOTUCATU - SP
Setembro – 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**QUALIDADE DO MEL DE *Apis mellifera* L. PRODUZIDO NA REGIÃO DO PÓLO
CUESTA, ESTADO DE SÃO PAULO**

KAREN FRANCO DE GODOI CARDOSO
ZOOTECNISTA

ORIENTADOR: PROF. DR. RICARDO DE OLIVEIRA ORSI
CO - ORIENTADORA: PROFA. DRA. VERA LÚCIA MORES RALL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

BOTUCATU - SP
Setembro – 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

C268k Cardoso, Karen Franco de Godoi, 1978-
Qualidade do mel de *Apis mellifera* L. produzido na região do Pólo Cuesta, Estado de São Paulo / Karen Franco de Godoi Cardoso. - Botucatu : [s.n.], 2011
viii, 63 f. : tabs., ils.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2011
Orientador: Ricardo de Oliveira Orsi
Co-orientador: Vera Lúcia Moraes Rall
Inclui bibliografia

1. Mel - Qualidade. 2. *Apis mellifera* L. 3. Pólo Cuesta. I. Orsi, Ricardo de Oliveira. II. Rall, Vera Lúcia Moraes. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

A Deus

Por estar sempre ao meu lado, mostrando o caminho e iluminando os meus passos

Ofereço

Ao meu marido Rhaufe

Pelo seu amor incondicional, paciência e dedicação

Ao meu filho Rhafael

Por existir

Ao meu filho Thomás

Que chegou para iluminar e alegrar minha vida dias antes da defesa

Dedico

Aos meus pais Reinaldo e Aparecida

Com amor e gratidão

Agradeço

HOMENAGEM ESPECIAL

Ao Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi, pela orientação e ensinamentos

A minha grande amiga Profa. Dra. Vera Lúcia Mores Rall, que além da orientação na realização das análises microbiológicas, sempre esteve presente com seu carinho, apoio e dedicação, minha eterna gratidão

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade da realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade, colaboração e apoio.

A todos os Professores da Graduação e Pós-Graduação, pela amizade e conhecimento por mim adquirido.

A Profa. Dra. Léa Silvia Sant'Ana, pela colaboração nas análises.

A Profa. Dra. Francy Magdalena Zambrano Sarmiento Cónsole, pela colaboração nas análises.

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti, pela realização das análises.

Aos funcionários e pós-graduandos do Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências de Botucatu.

Aos funcionários do Departamento de Produção Animal, pela colaboração, convívio e amizade.

Aos funcionários do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu, pela colaboração, paciência, convívio e amizade.

Aos funcionários do Laboratório de Tecnologia dos Produtos Agropecuários da Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP de Botucatu.

Às secretárias da Pós-Graduação em Zootecnia, pelo convívio e apoio.

Aos apicultores que doaram as amostras utilizadas neste trabalho

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Karen Franco de Godoi Cardoso é filha de Reinaldo Franco de Godoi e Aparecida Matheus de Godoi. Nasceu aos 18 de agosto de 1978 na cidade de São Paulo - SP. Casou-se com Rhaufe Cluife Cardoso com quem tem um filho Rhafael de Godoi Cardoso.

Em fevereiro de 2000, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP, onde recebeu o título de Zootecnista em vinte e oito de junho de 2005.

Em agosto de 2005 ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu, SP, onde recebeu o título de Mestre em Zootecnia em dezembro de 2007.

Em março de 2008 ingressou no Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu, SP.

SUMÁRIO

Capítulo 1

Considerações iniciais.....	Pág. 01
Revisão de Literatura.....	Pág. 02
Referências Bibliográficas.....	Pág. 17

Capítulo 2

Qualidade higiênico-sanitária do mel de *Apis mellifera* L. produzido na região

do Pólo Cuesta, Estado de São Paulo.....	Pág. 26
Resumo	Pág. 27
Introdução	Pág. 28
Material e Métodos	Pág. 29
Resultados e Discussão	Pág. 31
Conclusão	Pág. 34
Referências Bibliográficas	Pág. 34

Capítulo 3

Caracterização físico-química do mel de *Apis mellifera* L. produzido na região

do Pólo Cuesta, Estado de São Paulo.....	Pág. 38
Resumo	Pág. 39
Introdução	Pág. 40
Material e Métodos	Pág. 41
Resultados e Discussão	Pág. 43
Conclusão	Pág. 47
Referências Bibliográficas	Pág. 48

Capítulo 4

Análise isotópica de Carbono-13 para detecção de adulteração em méis de *Apis mellifera* L. produzido na região do Pólo Cuesta, Estado de São

Paulo.....	Pág. 51
Resumo	Pág. 52
Introdução	Pág. 53
Material e Métodos	Pág. 54
Resultados e Discussão	Pág. 56

Conclusão	Pág. 59
Referências Bibliográficas	Pág. 60
Capítulo 5	
Implicações.....	Pág. 62

TABELAS - CAPÍTULO 1

Tabela 1. Escala de cores de Pfund para classificação de méis.....	Pág. 08
---	---------

TABELAS - CAPÍTULO 2

Tabela 1. Classificação da contaminação do mel por bolores e leveduras, de acordo com a florada, separada por faixas ($\log_{10}$).....	Pág. 32
Tabela 2. Valores médios da atividade de água por florada.....	Pág. 33

TABELAS - CAPÍTULO 3

Tabela 1. Resultados dos intervalos (mínimo e máximo) das análises físico-químicas (umidade, cinzas, pH, acidez, sólidos insolúveis, cor, glicose comercial, teste de Fiehe, reação de Lund e lugol) das amostras de mel das floradas de eucalipto, laranja e silvestre produzidas na região do Pólo Cuesta do Estado de SP.....	Pág. 43
Tabela 2. Valores médios dos parâmetros analisados para as floradas de eucalipto, laranja e silvestre.....	Pág. 44

TABELAS - CAPÍTULO 4

Tabela 1. Valores em $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de mel da florada de eucalipto da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo.....	Pág. 57
Tabela 2. Valores em $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de mel da florada de laranja da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo.....	Pág. 57
Tabela 3. Valores em $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de mel da florada silvestre da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo.....	Pág. 58
Tabela 4. Resultados comparativos das análises dos méis por técnicas físico-químicas e análises isotópicas do carbono-13.....	Pág. 59

FIGURAS - CAPÍTULO 1

Figura 1. Régua isotópica com escala em $\delta^{13}\text{C}$	Pág. 14
Figura 2. Região do Pólo Cuesta	Pág. 16

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1 – Revisão de Literatura

A apicultura brasileira encontra-se em fase de ascensão, sendo hoje mais conhecida internacionalmente pelo domínio da metodologia de controle das abelhas africanizadas e pelo significativo crescimento da indústria apícola, que vem se destacando pela variabilidade, qualidade e aumento na produção (Gonçalves, 2000; Perosa *et al.*, 2004). Em 2009 o Brasil produziu 38,7 mil toneladas de mel, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010). Desse total, 26 mil toneladas foram destinadas ao mercado externo, gerando receita de US\$ 65,8 milhões (ABEMEL, 2011).

A apicultura é uma das poucas atividades agropecuárias que atende os três requisitos da sustentabilidade: o econômico, o social e o ecológico. Sendo assim, fornece renda para o apicultor, ocupa mão-de-obra familiar ou contratada e contribui para a preservação da flora nativa, pois é dela que são extraídos o néctar e o pólen, componentes essenciais para a vida das colméias (Paula Neto e Almeida Neto, 2006; Bayma, 2008). Assim, a apicultura brasileira passou a reunir alguns requisitos que a colocou num elevado potencial de inclusão, pois sob o ponto de vista ambiental, econômico e social é capaz de gerar ocupações socialmente justa, ambientalmente corretas e economicamente viáveis. As abelhas do gênero *Apis* constituem hoje em dia material de trabalho para os apicultores brasileiros, gerando assim atividade sustentável, pois apesar de sua maior agressividade, elas começam a produzir mais cedo, param mais tarde e não apresentam o instinto de hibernação comum às raças européias.

Em 2000, a China, maior produtor mundial de mel, teve seu produto barrado na Europa e Estados Unidos, que são os maiores importadores. O motivo foi à contaminação da produção por antibióticos não permitidos para consumo humano. A crise no mercado mundial de mel foi imediata, os consumidores voltaram-se para outros produtores e o Brasil transformou-se em pouco tempo num grande exportador (FINEP, 2011).

A procura por produtos naturais, sem contaminação, coloca o Brasil em situação privilegiada de fornecimento de produtos apícolas no mercado nacional e internacional, tendo por base a biodiversidade de nossa flora, a rusticidade de nossas abelhas e as características de nosso clima (SEBRAE/RN). No entanto, a apicultura tem muito a se

desenvolver no país e pouco se sabe sobre as propriedades e características de nossos produtos (Vargas, 2006).

É comum encontrar variações na composição física e química do mel, pois vários fatores interferem na sua qualidade: condições climáticas, florada, estágio de maturação, espécie de abelha, processamento e armazenamento. A obtenção de parâmetros físico-químicos de méis é importante para sua caracterização (Serrano *et al.*, 2004; Welke *et al.*, 2008), como também é primordial para garantir a qualidade desse produto no mercado. Além disso, é de fundamental importância a caracterização regional de méis, considerando-se a diversidade botânica e a variação climática de cada região (Terrab *et al.*, 2001; Welke *et al.*, 2008).

A microbiota também varia, possuindo microrganismos introduzidos pelas próprias abelhas e outros introduzidos de forma indesejada por falta de higiene na manipulação ou durante a extração e beneficiamento do mel (Lopes, 2008). A colheita, primeiro contato do apicultor com o mel, é o ponto crítico do processo de obtenção, pois nesta etapa inicia exposição a condições que podem interferir na sua qualidade – manipulação, equipamentos, instalações (Silva *et al.*, 2004). A forma de armazenamento das abelhas permite sua conservação e devem ser tomados cuidados para interferir o mínimo possível na qualidade do mel, garantindo a manutenção de suas características originais (White, 1993). Por meio de análises físico-químicas, microbiológicas e isotópicas é possível detectar irregularidades no produto.

1.1 – Origem e Características do Mel

Entende-se por mel o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas a partir do néctar das flores ou de secreções procedentes de partes vivas de plantas ou de excreções de insetos sugadores que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos da colméia (Brasil, 2000).

Quanto à sua origem, o mel pode ser classificado em mel floral ou mel de melato (melato). O mel floral é obtido dos néctares das flores, e ainda pode ser classificado em: mel unifloral ou monofloral (quando o produto procede principalmente da origem de flores de uma mesma família, gênero ou espécie e possua características sensoriais, físico-químicas e microscópicas próprias) ou mel multifloral ou polifloral (obtido a

partir de diferentes origens florais). O mel de melato é formado principalmente a partir de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas (Brasil, 2000).

Conhecido desde a antiguidade, o mel foi durante muito tempo o único edulcorante usado pelo Homem, até ser substituído gradualmente por açúcares refinados manufaturados, como os extraídos da cana de açúcar e beterraba (Couto e Couto, 1996; Vargas, 2006). O Homem usava o mel de muitos modos: como alimento, medicamento e oferenda aos deuses. No antigo Egito o mel era ofertado em cerimônias religiosas e quando os israelitas presenteavam os produtos de suas primeiras colheitas a Deus, incluíam o mel.

Como medicamento, papiros egípcios de cerca de 1500 a.C citam o mel em centenas de prescrições para uso interno e externo. Na Babilônia e na Grécia Antiga, o mel também era usado para conservar o corpo de reis ou generais mortos em batalha, até que pudessem ser transportados para o funeral (Crane, 1996; Molan, 1996; Sato e Miyata, 2000).

Na Idade Média, o mel era alimento tão importante para a subsistência que há registros de testamentos destinando colméias com abelhas a pessoas da família ou para a igreja. O roubo de colméias poderia ser punido com a morte. O mel e o açúcar eram produtos de muito valor (Crane, 1985; Pereira *et al*, 2003)

O mel contém uma mistura complexa de carboidratos, enzimas, aminoácidos, ácidos, minerais, substâncias aromáticas, vitaminas, pigmentos, ceras e grãos de pólen. Sua composição, cor, aroma e sabor podem ser bastante variados, dependendo principalmente das floradas, das regiões geográficas e condições climáticas (National Honey Board, 2011).

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

Os açúcares encontrados no mel são: glicose, frutose, sacarose, maltose, isomaltotetraose, maltulose, isomaltulose, nigerose, turanose, cojibiose, neotrehalose, gentiobiose, laminaribiose, leucrose, melesitose, rafinose, isopanose, isomaltetraose, α -G-

α -glicosilsacarose, arabogalactomanose, erlose, dextrantriose, maltotriose, isomaltopentose, centose, 1-cestose, panose, isomaltotriose, 3- α -isomaltosilglicose (Crane, 1985; Marchini *et al.*, 2004). Estes açúcares influenciam na viscosidade, higroscopicidade, granulação e valor energético dos méis (Marchini *et al.*, 2004).

A glicose é responsável pela cristalização do mel, cuja tendência pode ser estimada pela relação G/A (glicose/água). O maior problema relacionado com a cristalização é o aumento da atividade de água, que permite o desenvolvimento das células de leveduras osmofílicas e a fermentação do produto com aumento da acidez (Moreira e De Maria, 2001; Vargas, 2006).

As enzimas presentes em quantidades maiores no mel são a invertase, amilase (diastase) e glucose-oxidase, produzidas nas glândulas hipofaríngeas das abelhas operárias e adicionadas ao néctar na vesícula melífera, enquanto a abelha transporta o néctar ou melato para colméia. A invertase promove a hidrólise da sacarose do alimento coletado em glicose e frutose. A diastase é a enzima que hidrolisa o amido e pode ser considerada indicativo da qualidade do mel. A glucose-oxidase, em soluções diluídas, reage com a glicose formando ácido glucônico e peróxido de hidrogênio, capaz de proteger o mel da decomposição bacteriana (Couto e Couto, 1996; Crane, 1996; National Honey Board, 2011; Vargas, 2006).

O mel possui menos de 0,3% de aminoácidos, sendo a prolina o mais abundante, cerca de 50-85% do total (Crane, 1975; National Honey Board, 2011; Paramás *et al.*, 2006). Assim como os aminoácidos, os ácidos orgânicos compreendem pequena porção no mel (cerca de 0,5%) e a acidez total pode ser indicador de fermentação. Nestes incluem o ácido acético, butírico, cítrico, fórmico, láctico, málico, piroglutâmico, succínico e, em maior quantidade, o ácido glucônico (National Honey Board, 2011).

O conteúdo de minerais, muitas vezes referido como metais, também é considerado na maioria das análises físico-químicas dos méis. Os minerais influem diretamente na coloração do mel, estando presente em maior concentração nos méis escuros em comparação com os claros (Marchini *et al.*, 2004).

1.2 – Qualidade Microbiológica

Os microrganismos presentes no mel podem ter influência sobre sua qualidade e sua segurança. No entanto, devido às propriedades naturais deste alimento e ao controle

de métodos industriais, acredita-se que seja um produto com pequenas quantidades e pouca diversidade de microrganismos (Snowdon e Cliver, 1996; Matuella e Torres, 2000). Segundo White *et al.* (1963), a atividade antimicrobiana bactericida ou bacteriostática ocorre devido à osmolaridade (atividade de água entre 0,5 e 0,6), pH (3,4 a 6,1) e ação de peróxido de hidrogênio.

As origens primárias de contaminações microbiológicas no mel incluem pólen, o trato digestório de abelhas operárias, poeira, ar, terra e néctar e são de difícil controle. As origens secundárias são as mesmas que influenciam qualquer produto alimentício, incluindo ar, manipuladores de alimento, contaminação cruzada e equipamentos, podendo ser evitada com a adoção de boas práticas de manipulação (Finola *et al.*, 2007).

A microbiota predominante no mel é composta de bolores e leveduras e bactérias formadoras de esporos, sendo os primeiros contaminantes, os responsáveis pela sua fermentação, se estiverem em concentrações elevadas. *Penicillium* e *Mucor* são os gêneros de bolores mais frequentemente isolados e entre as leveduras, observa-se *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* e *Torula* (Migdal *et al.*, 2000). Entre as bactérias produtoras de esporos, as mais frequentemente encontradas são *Bacillus* sp e *Clostridium* sp (Collins *et al.*, 1999).

Huhtanen *et al.* (1981) verificaram a possibilidade de abelhas atuarem como portadoras acidentais de esporos. Abelhas foram inoculadas experimentalmente com esporos de *C. botulinum* pelo consumo de uma solução de água e açúcar a 50% contendo $1,6 \times 10^5$ esporos de 20 cepas diferentes (11 do tipo A e nove do tipo B). O mel coletado da colméia, duas semanas depois, continha 1100 esporos por grama. Aquele coletado após cinco semanas apresentou 50 esporos por grama. Estimativas indicaram que todos os esporos ingeridos pelas abelhas haviam sido incorporados ao mel. Nenhum esporo foi encontrado no conteúdo retal ou intestinal das abelhas duas semanas após a ingestão da solução, sugerindo que as abelhas não retêm esses microrganismos por muito tempo.

No estado da Califórnia (USA), durante estudos epidemiológicos e laboratoriais, aproximadamente 30% dos casos de botulismo infantil foram associados à ingestão de mel contendo esporos de *C. botulinum*. Entretanto, em 1996, menos que 5% desses casos ocorreram devido à ingestão de mel, indicação do êxito do programa educacional do estado (Midura, 1996).

Segundo a European Commission (2002), *Clostridium botulinum* e outros clostrídios produtores de neurotoxina botulínica são os únicos perigos microbiológicos que o mel pode veicular. Embora *Bacillus* sp seja frequentemente detectado no produto, algumas vezes em número elevado, não há relato de distúrbios causados por eles e nenhuma forma vegetativa de espécies de bactérias patogênicas tem sido encontrada. (Snowdon e Cliver, 1996).

As legislações brasileiras e internacionais vigentes (Brasil, 2000, 2001; Codex Alimentarius Commission, 2001; Mercosul, 1999) não exigem realização de análises microbiológicas. Estas estabelecem apenas que sejam realizados procedimentos de higiene na manipulação do produto.

Como a apicultura é uma atividade que vem crescendo gradativamente, faz-se necessário o controle e a fiscalização no cumprimento de normas de higiene indispensáveis para a produção e comercialização adequada do mel, pois alguns produtos comercializados nas cidades podem apresentar contaminação microbiológica (Lieven *et al.*, 2009).

1.3 – Características Sensoriais

De acordo com a instrução normativa nº 11 de 2000, que regulamenta a identidade e qualidade do mel, as características sensoriais são: cor, sabor, aroma e consistência (viscosidade). A cor pode ser variável de quase incolor a pardo-escuro, o sabor e o aroma devem ser característicos de acordo com a sua origem botânica. Já a consistência será de acordo com o estado físico em que o mel se encontra (Brasil, 2000).

Os méis brasileiros possuem grande variação de cor o que pode influenciar na preferência do consumidor, que, na maioria das vezes, escolhe o produto apenas pela aparência. Tal é a relevância deste parâmetro que o International Trade Fórum considerou a cor como uma das características do mel que tem particular importância no mercado internacional. A cor do mel está correlacionada com a sua origem floral, o processamento e armazenamento, fatores climáticos durante o fluxo do néctar, a temperatura na qual o mel amadurece na colméia (Seemann e Neira, 1988) e o conteúdo de minerais presentes, que muitas vezes são expressos como cinzas (Vermeulen e Pelerents, 1965; Lasceve e Gonnet, 1974; Ortiz, 1988; Bath e Singh, 1999; Bogdanov, 1999).

A determinação de cor pode ser realizada com uma amostra de mel líquido em espectrofotômetro a 560 nm, em células de 1 cm, usando-se como branco água destilada. O procedimento baseia-se nos diferentes graus de absorção da luz de diferentes comprimento de onda, dependendo de constituintes presentes na amostra de mel (Moraes e Teixeira, 1998). A leitura obtida é comparada a escala de cores, denominada escala de cores de Pfund (Tabela 1).

O aroma e sabor estão relacionados diretamente com a cor do mel. Quanto mais escuro o mel, mais forte seu aroma e seu sabor. Por meio dessas duas características o apicultor pode identificar a origem floral do mel. Por exemplo, denomina-se mel floral de eucalipto, o produto cujo aroma e sabor são originários das flores de eucalipto. Quando o aroma e o sabor estão mascarados, não se torna possível a identificação da origem do mel, classificando-se como mel silvestre (Alves *et al.*, 2005). Segundo Arpana e Rajalaksmi (1999), os méis com sabor delicado são sempre claros e os escuros normalmente têm um sabor forte concluindo que a cor pode oferecer informações sobre o sabor.

Tabela 1. Escala de cores de Pfund para classificação de méis

Cor	Escala de Pfund	Faixa de Cor (leitura no espectrofotômetro)
Branco d'água	1 a 8 mm	0,030 ou menos
Extra branco	8 a 17 mm	0,030 a 0,060
Branco	17 a 34 mm	0,060 a 0,120
Extra âmbar claro	34 a 50 mm	0,120 a 0,188
Âmbar claro	50 a 85 mm	0,188 a 0,440
Âmbar	85 a 114 mm	0,440 a 0,945
Âmbar escuro	> 114 mm	> 0,945

A avaliação de aroma e sabor é mais subjetiva que a de cor, pois se indica a análise sensorial, que utiliza a habilidade que o ser humano tem de comparar, diferenciar e quantificar os atributos de qualidade (Alves *et al.*, 2005).

A viscosidade do mel depende grandemente do seu conteúdo de água e está assim ligada a sua densidade relativa, quanto menos água, mais alta a densidade e viscosidade (Crane, 1985; Mendes *et al.*, 2009).

A análise sensorial foi usada a primeira vez, em méis, na França em 1979, como técnica tradicional. Na Itália começou a ser usada em 1995, quando fundou o Registro de *Experts Italianos* na Análise Sensorial de mel, que estabeleceu método padrão tradicional, incluindo terminologia harmonizada, formas de avaliação, métodos de provar, de treinar e selecionar provadores, e descrição sensorial dos principais méis uniflorais do país. Similarmente, também foram desenvolvidos para outros países da Europa. Depois disso houve um movimento para desenvolver e aplicar técnicas mais modernas. Em 1998 foi formado um grupo pela IHC (*International Honey Commission of Apimondia*) para estudar a aplicação da análise sensorial para mel (Piana *et al.*, 2004; Bayma, 2008).

1.4 – Características Físico-Química

A composição física e química do mel pode ser variável naturalmente, tendo em vista a interferência de fatores como: estágio de maturação, condições climáticas predominantes, espécie de abelha e tipo de florada (Silva *et al.*, 2004; Pereira, 2010). O mel também pode ter sua composição variada em função do processamento e do armazenamento (Azeredo *et al.*, 2003; Pereira, 2010).

Segundo Silva *et al.* (2009), essa dependência com os fatores citados acima é refletida na cor, sabor, odor e nas características físico-químicas dos méis cuja diversidade é tão ampla quanto as condições em que é produzido.

Diversos parâmetros físico-químicos e químicos vêm sendo utilizados na caracterização do mel. Trata-se de um alimento complexo do ponto de vista biológico e também analítico, visto sua composição variada em função de sua origem floral e geográfica, assim como pelas condições climáticas (Bastos, 1994; Rodrigues *et al.*, 2005).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, por meio da Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000 – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (Brasil, 2000) estabelece como requisitos de qualidade físico-química as análises de açúcares redutores, umidade, sacarose aparente, sólidos insolúveis em água, minerais (cinzas), acidez livre, atividade diastásica, hidroximetilfurfural (HMF) e conteúdo de pólen. Para cada requisito, estabelece padrões de qualidade que os produtos devem atender.

Os monossacarídeos glicose e frutose são açúcares redutores por possuírem grupo carbonílico e cetônicos livres, capazes de se oxidarem na presença de agentes oxidantes em soluções alcalinas. Os dissacarídeos que não possuem essa característica sem sofrerem hidrólise da ligação glicosídica são denominados de açúcares não redutores (Silva *et al.*, 2003). Tanto a legislação brasileira (Brasil, 2000) quanto o Mercosul (Mercosul, 1999), estabelecem como especificação o mínimo de 65% de açúcares redutores.

Na composição do mel a água constitui o segundo componente em quantidade, geralmente variando de 15 a 21%, dependendo do clima, origem floral e colheita antes da completa desidratação (Marchini *et al.*, 2004). A umidade é o critério de qualidade que determina a capacidade do mel se manter estável e livre de fermentação. Quanto maior a umidade, maior a probabilidade de o mel fermentar durante o seu armazenamento (Crane, 1985; Bogdanov, 1999; Vargas, 2006).

Segundo Seemann e Neira (1988), a umidade é uma das características mais importantes, por influenciar na sua viscosidade, no seu peso específico, na sua maturidade, cristalização e no seu sabor, interferindo na sua conservação e palatabilidade. O Codex Alimentarius (2001) estabelece o limite de 20% de umidade, assim como a legislação brasileira e do Mercosul (Mercosul, 1999).

A sacarose é o dissacarídeo que representa, em média, 2 a 3% dos carboidratos no mel e valores superiores a este, pode indicar o mel “verde”, isto é, quando o produto ainda não foi totalmente transformado em glicose e frutose pela ação da enzima invertase secretada pelas abelhas, além de poder indicar adulteração do produto (Azeredo *et al.*, 1999). Pela norma brasileira (Brasil, 2000) e do Mercosul (Mercosul, 1999), o valor não pode exceder 6%.

A quantidade de sólidos insolúveis em água é indicativa do grau de pureza auxiliando na identificação de resíduo de favos e detritos da própria colméia (Andrade, 2006).

Muitos dos méis distribuídos comercialmente têm sofrido processamento físico, como filtração, centrifugação e decantação, com a finalidade de remover partes de insetos, grãos de pólen e partículas de cera. Fraudes podem ser praticadas durante o processamento no sentido de aumentar a quantidade dessas partículas. A legislação

brasileira estabelece o teor máximo de sólidos insolúveis em água de 0,1%, tanto para o mel de flores como para o de melato (Brasil, 2000).

O teor de cinzas indica a quantidade de minerais encontrados no mel. Este é influenciado pela origem botânica, expressando a riqueza do mel em minerais. O teor de cinzas muito alto indica que o mel sofreu adulterações (Venturini *et al.*, 2007).

Silva *et al.*(2004), determinaram a porcentagem de cinzas entre 0,04 e 1,02%, sendo que 44,4% das amostras de mel, apresentaram valores acima do limite de 0,60% estabelecido pela legislação brasileira (Brasil, 2000). Vermeulen e Pelerents (1965) relataram a possibilidade de modificações do espectro mineral do mel devido a quantidade maior do pólen em mel prensado ou colhido de favo com pólen. Para Ortiz-Valbuena (1988) o conteúdo de cinzas está correlacionado com a cor do mel, pois quanto mais escuro é o mel mais cinzas ele contém.

A acidez é um importante componente do mel, pois contribui para a sua estabilidade, frente ao desenvolvimento de microrganismos (Marchini *et al.*, 2004).

A origem da acidez do mel deve-se à variação dos ácidos orgânicos causada pelas fontes de néctar, pela ação da enzima glicose-oxidase que origina o ácido glucônico (White Jr, 1989; Horn, 1996) pela ação das bactérias durante a maturação do mel e, ainda, pela quantidade de minerais presentes no mel (White Jr, 1989). Pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (Brasil, 2000) e pelas exigências do Mercosul (Mercosul, 1999) o valor de acidez não deve ultrapassar 50 meq. kg⁻¹.

A atividade diastásica é indicada para avaliar a qualidade do mel e oferece indicativo sobre o grau de conservação e superaquecimento, o que compromete seriamente o produto (Marchini *et al.*, 2004). A diastase (α -amilase) é uma das enzimas do mel, formada principalmente pelas glândulas hipofaríngeas das abelhas, sendo encontrada também, em baixa proporção, nos grãos de pólen (Pamplona, 1989; Marchini *et al.*, 2004).

A amilase é muito importante para detectar os possíveis aquecimentos que possa ter sofrido o mel, em seu processo comercial, pelo fato da amilase ser muito instável frente às elevações de temperatura. Entretanto, deve-se considerar que a amilase deteriora-se à temperatura ambiente, quando o armazenamento for prolongado e, portanto, funciona como indicativo da idade do mel de abelha (Vargas, 2006).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (Brasil, 2000) e as exigências do Mercosul (Mercosul, 1999) aceitam o mínimo de oito na escala de Gothe ou três, se o teor de HMF (hidroximetilfurfural) não ultrapassar 15 mg/kg.

O hidroximetilfurfural (HMF) é produto da desidratação de hexoses em condições ácidas, numa velocidade que varia diretamente com a temperatura (White, 1994; Bogdanov, 1999). O mel possui naturalmente HMF, no entanto, quando elevado indica queda no seu valor nutritivo, pela destruição, por meio de aquecimento, de algumas vitaminas e enzimas que são termolábeis (Veríssimo, 1988).

Faria (1993) testou amostras de mel armazenadas em diferentes tempos e embalagens, temperaturas, fontes de luminosidade e umidade relativa do ar. Em todas as condições, o teor de HMF aumentou em função do tempo. No entanto, as amostras submetidas à luz fluorescente apresentaram menores teores de HMF, em relação ao grau de transparência das embalagens.

As abelhas, ao coletarem o néctar das flores para a produção de mel, carregam também, involuntariamente ou não, o pólen, sendo este adicionado ao mel quando o néctar é regurgitado nos alvéolos. Desta maneira, o pólen aparecerá no mel e em outros produtos da colméia como cera e própolis, constituindo-se em importante indicador de sua origem geográfica, principalmente, e botânica (Moreti, 2006).

A análise polínica baseia-se no conhecimento prévio das características morfológicas dos grãos de pólen de espécies de plantas ou de grupos de plantas. Esta análise é feita por comparação do pólen presente nos produtos apícolas (mel, própolis, cera) (Barth, 1989; Barth *et al.*; 1998; Barth *et al.* 1999), com aqueles referentes à flora da região, previamente catalogados. O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (Brasil, 2000) estabelece como requisito a presença de grãos de pólen no mel, garantindo assim sua pureza.

1.5 – Adultrações do Mel

Ao longo da história, dentre os alimentos presentes na dieta humana, o mel vem sendo alvo de freqüentes adultrações. (Doner, 1991), pois o mel tem disponibilidade limitada e preço relativamente alto, incentivando a sua adultração (Ilg, 1988).

Até 1974 as adultrações mais comuns resumiam-se a adição de açúcar comercial ou açúcar invertido, sendo que as detecções das mesmas podiam ser feitas pela

quantificação de hidroximetilfulfural (HMF). Esse composto resultante da degradação da hexose pode ser encontrado no mel, mas em pequena quantidade. A sua presença em níveis maiores pode ser resultado de três causas: superaquecimento do produto, estocagem prolongada e fraude por adição de açúcar comercial ou açúcar invertido rico em HMF. Nos dois primeiros casos, o aumento, embora exista, é menor quando comparado ao resultado da fraude pela adição dos compostos anteriores citados. Portanto, a detecção de HMF feita qualitativamente ou quantitativamente era, até 1974, capaz de garantir a pureza do produto contra a principal fraude realizada até então (White Jr. e Doner, 1978a; Arauco, 2005; Souza, 2007). A partir daquele ano, um novo tipo de adulteração começou a ser realizado nos Estados Unidos através da adição de HFCS (High Fructose Corn Syrup) ao mel, produto com custo de produção muito baixo, obtido a partir de tratamento enzimático do xarope de milho e que possui a glicose (50%) e a frutose (42%) como principais elementos de sua composição. A adição de HFCS ao mel não pôde ser detectada pela análise do hidroximetilfulfural (HMF) (White Jr. e Doner, 1978a; Arauco, 2005; Souza, 2007).

Na medida em que novos tipos de adulterações ocorreram, novos métodos analíticos foram desenvolvidos com intuito de detectar tais fraudes. Dentre esses métodos, a análise isotópica do carbono é capaz de identificar e quantificar se o mel foi ou não adulterado com açúcar comercial ou xarope de milho (Arauco, 2005; Souza-Kruliski *et al.*, 2010).

1.6 – Aplicação dos Isótopos Estáveis no Mel

As plantas do ciclo fotossintético C_3 (laranjeira, videira, cevada, etc.), durante a fotossíntese, absorvem o CO_2 por meio dos estômatos da folha pelo processo de difusão, que é transferido até as células do mesófilo (cloroplasto). Nessas células, ocorre o processo de síntese orgânica, onde a reação química entre o CO_2 com um composto de cinco carbonos (ribulose 1,5 difosfato) é catalizada pela enzima RuBP-carboxilase, formando duas moléculas de três carbonos (ácido 3-fosfoglicerato), que serão convertidas em açúcar (Lehninger *et al.*, 1995).

Os vegetais com ciclo fotossintético C_4 (cana de açúcar, milho, gramíneas tropicais, etc.) possuem dois tipos de cloroplastos: o do mesófilo e o da bainha. Funcionalmente, a produção de carboidratos não ocorre nas células do mesófilo, mas

sim nas células da bainha. O CO_2 que entra nos estômatos por difusão passa para as células do mesófilo, onde é fixado na forma de HCO_3^- . Esse composto reage com fosfoenol-piruvato (PEP), reação esta catalizada pela enzima PEP-carboxilase, formando oxalacetato que, por sua vez, é reduzido a um composto de quatro carbonos (malato ou aspartato). Esses compostos são transportados para as células da bainha e, nessas células, são descarboxilados para formar o CO_2 e piruvato. O CO_2 concentrado por esse processo entra para o ciclo de síntese orgânica idêntico ao ciclo das plantas C_3 (Lehninger *et al.*, 1995).

As abelhas melíferas utilizam, para a fabricação do mel geralmente as plantas que seguem o ciclo fotossintético C_3 , as quais diferem isotopicamente das plantas do ciclo fotossintético C_4 com diferença de 14‰ (Souza, 2007).

A Figura 1 ilustra a diferença isotópica dos valores entre C_3 e C_4 .

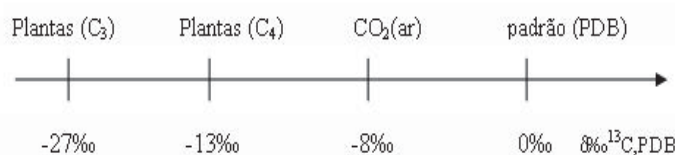


Figura 1 - Régua isotópica com escala em $\delta^{13}\text{C}$ (Ducatti, 2005)

O primeiro estudo que alicerçou a metodologia foi desenvolvido em 1977. Nesse estudo foram analisadas 84 amostras de mel americano e 35 amostras de outros países, inclusive duas amostras oriundas do Brasil (White Jr. e Doner, 1978b).

A homogeneidade aparente dos dados relativos à composição isotópica do mel foi um indicativo para a continuidade das pesquisas e a aprovação da nova técnica. Assim, em 1989 foi estabelecida a utilização do padrão interno (proteína) para cada amostra, de maneira que se a amostra fosse adulterada a composição isotópica do padrão interno não se alteraria, mas a da amostra como um todo sim (White Jr. e Winters, 1989; White Jr., 1992; Arauco, 2005), tornando-se, portanto, uma ferramenta analítica de grande importância para a detecção de adulteração no mel.

A viabilidade do método na detecção da adição de açúcar de cana (planta C_4) em méis foi demonstrado por Rossi *et al.* (1999). O trabalho analisou méis de diversas regiões do Estado de São Paulo, quanto a sua origem botânica (laranja, floral e eucalipto - todas plantas C_3). Com o intuito de testar a sensibilidade da metodologia

isotópica, foi adicionada quantidades crescentes de melaço de cana (-11,8‰) à uma amostra de mel de valor conhecido de -26,6‰. Observou-se que, mesmo para baixas adições de melaço (de 10%) houve aumento de 1,7‰ no valor de $\delta^{13}\text{C}$ da mistura. Considerando-se que a máxima variação aceita para as réplicas foi de 0,3‰, diferenças da ordem de 2‰ podem significar alterações mensuráveis.

1.7 – Pólo Cuesta

O Pólo Cuesta é o consórcio turístico criado em 2001, como associação sem fins lucrativos, com o objetivo de desenvolver o turismo de forma regional e sustentável por meio da integração e trabalho em conjunto dos municípios. O consórcio é composto pelos municípios de Anhembi, Areiópolis, Bofete, Botucatu, Conchas, Itatinga, Paranapanema, Pardinho, Pratânia e São Manuel (Figura 1).

Este tem por finalidade representar o conjunto dos municípios que o integram em assuntos de interesses comuns, perante quaisquer outras entidades públicas, de qualquer esfera de governo, além das de iniciativas privadas. Estes interesses são os de prestar, aos municípios associados, serviços de planejamento, capacitação, normatização, construção e conservação de equipamentos turísticos; além de marketing que venham a promover o desenvolvimento do turismo regional mediante programas de trabalho devidamente aprovados pelo Conselho de Municípios. Têm por objetivo também o planejamento e execução de políticas de melhor aproveitamento do potencial turístico dos municípios mediante o desenvolvimento integrado e sustentável sob os aspectos ambientais, sociais, éticos e econômicos. E finalmente estimular o desenvolvimento de programas permanentes de conservação e proteção do meio ambiente (Pólo Cuesta, 2011).

De origem mexicana, a palavra “Cuesta”, é traduzida para o português como “degrau”. Foi introduzida pelo francês Emmanuel De Martonne professor da universidade de São Paulo, a partir dos estudos realizados na Espanha, e na década de 30 do século XX, pela estrada de ferro sorocabana, a qual adotou a denominação “Cuesta de Botucatu”, para a forma de relevo encontrada na região.

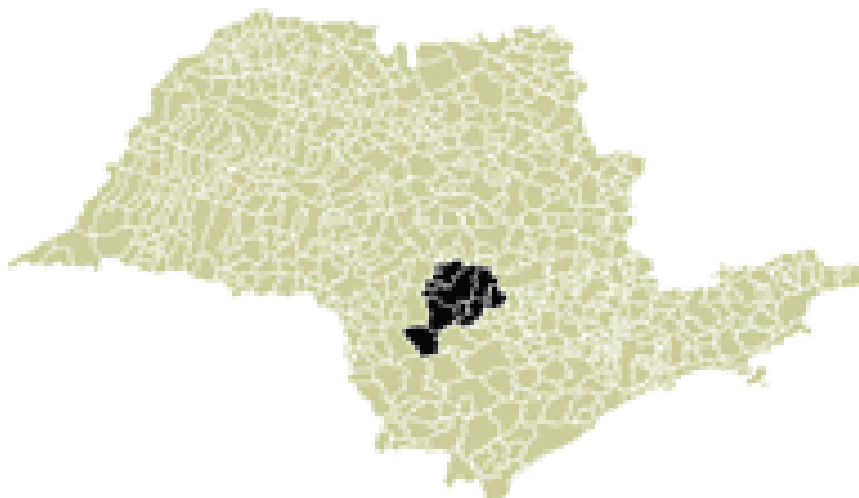


Figura 2: Região do Pólo Cuesta (Fonte: Associação Paulista de Municípios, 2011)

A Cuesta é uma formação de relevo escarpado em um dos lados com suave declive em outro, constituindo “degraus”, que se elevam sobre o solo até mil metros de altura, formando grandes paredões, cujo topo não é pontiagudo como as serras, mas sim uma vasta área plana. A região do Pólo Cuesta possui também imenso reservatório de água doce e potável do planeta, cuja recarga é feita nessa região. Este reservatório é o maior do mundo em extensão continua conhecido como aquífero Guarani, ocupando uma área total de 1,2 milhões de km, estendendo-se pelo Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina; 2/3 dessa área está no Brasil, abrangendo os estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Pólo Cuesta, 2011).

Considerando o crescente impulso da apicultura nessa região e da escassez de informações sobre qualidade do produto, pesquisas são imprescindíveis para contribuir na identificação e melhoria do padrão de qualidade do produto e consequentemente, fornecer condições para futura valorização do mel produzido no Pólo Cuesta, bem como direcionar atividades de apoio e desenvolvimento.

O presente trabalho foi dividido em capítulos abaixo-descritos:

- Capítulo 2: **Qualidade higiênico-sanitária do mel de *Apis mellifera* L. produzido na região do Pólo Cuesta, Estado de São Paulo**, apresenta-se de acordo com as normas de publicação da **Revista Acta Scientiarum Animal Science**.

- Capítulo 3: **Qualidade físico-química do mel de *Apis mellifera* L. produzido na região do Pólo Cuesta, Estado de São Paulo**, apresenta-se de acordo com as normas de publicação da **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**.

- Capítulo 4: **Análise isotópica de carbono-13 para detecção de adulteração em méis de *Apis mellifera* L. produzido na região do Pólo Cuesta, Estado de São Paulo**, apresenta-se de acordo com as normas de publicação da **Revista Ciência e Agrotecnologia**.

- Capítulo 5: **Implicações**

2 – Referências Bibliográficas

ALVES, M. A. M.; MODESTA, R. C. D.; SILVA, A. L. de S. **Desenvolvimento do perfil sensorial de méis silvestres (*Apis mellifera*) de vários municípios do Estado de Alagoas**. Rio de Janeiro: Embrapa, 2005. (Comunicado Técnico 86).

ANDRADE, E. C. B. **Análise de alimentos: uma visão química da nutrição**. São Paulo: Varela, 2006.

ARAUCO, E. M. R. **Avaliação da qualidade do mel e atividade da enzima invertase em *Apis mellifera* L. africanizadas**. 2005. 109 f. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

ARPANA, A. R.; RAJALAKSMI, D. Honey: its characteristics, sensory aspects and applications. **Food Reviews International**, New York, v. 15, n. 4, p. 455-471, 1999.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE MEL (ABEMEL). Disponível em: <<http://www.abemel.com.br/estatisticas.htm>>. Acesso em: 20 fev. 2011.

ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE MUNICÍPIOS. Disponível em: <<http://www.apaulista.org.br/apm/constitucional/agencia.asp>>. Acesso em: 01 mar. 2011.

AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. C.; DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidelis-RJ. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 3-7, 1999.

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

BARTH, O. M. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Luxor, 1989. 151 p.

BARTH, O. M.; LUZ, C. F. P. Melissopalynological data obtained from a mangrove area near to Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Apicultural Research**, London, v. 37, n. 2, p. 155-163, 1998.

BARTH, O. M.; DUTRA, V. M. L.; JUSTO, R. L. Análise polínica de algumas amostras de própolis do Brasil Meridional. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, p. 663-667, 1999.

BASTOS, D. H. M. Açúcares do mel: aspectos analíticos. **Revista de Farmácia e Biologia**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 151-157, 1994.

BATH, P. K.; SINGH, N. A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honeys. **Food Chemistry**, London, v. 67, n. 4, p. 389-397, 1999.

BAYMA, A. B. **Perfil sensorial e instrumental de méis silvestres de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) das cinco mesorregiões do Estado do Maranhão**. 2008. 136 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

BOGDANOV, S. Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. **Bee World**, Bucks, v. 80, n. 2, p. 61-69, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Brasília, DF, 2000. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7797>>. Acesso em:

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Brasília, DF, 2001. Disponível em: <<http://anvisa.gov.br/legis/resol>>. Acesso em: 26 jan. 2011.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Revised Codex Standard for Honey. Codex Stan 12 – 1981, 2. rev., 2001. 7p. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?long=em>. Acesso em: 01 nov. 2010.

COLLINS, C. H. et al. **Lyne's microbiological methods**. 7. ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1999. p. 213–221.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. **Apicultura: manejo e produtos**. Jaboticabal: UNESP, 1996. 154 p.

CRANE, E. **Honey: a comprehensive survey**. London: Heinemann, 1975. 608 p.

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

CRANE, E. The past and present importance of bee products to men. In: MIZRAHI, A.; LENSKY, Y. **Bee products**. New York: Plenum Press, 1996. p. 1-13.

DONER, L. W. Verifying the authenticity of plant-derived material by stable isotope ratio and chromatographic methodologies. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 74, p. 14-19, 1991.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Botucatu: UNESP, 2005. 185 p.

EARTHGUIDE. Disponível em: <<http://earthguide.ucsd.edu/fuels/element.html>>. Acesso em: 04 abr. 2011.

EUROPEAN COMMISSION. **Health & consumer protection directorate-general. opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on honey and microbiological hazards.** Bruxelas, 2002. 40 p.

FARIA, J. A. F. Shelf life testing of honey. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v. 13, n. 1, p. 58-66, 1993.

FINANCIADORA DE ESTUDOS E PROJETOS (FINEP). Disponível em: <<http://www.finep.gov.br>>. Acesso em: 20 fev. 2011.

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

GONÇALVES, L. S. Perspectivas da exploração da apicultura com abelhas africanizadas no contexto apícola mundial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13., 2000, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBA, 2000.

HORN, H. **Practical cours intensivo de análise do mel.** 1996. 43 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia)-Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1996.

HUHTANEN, C. N.; KNOX, D.; SHIMANUKI, H. Incidence and origin of *Clostridium botulinum* spores in honey. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 44, n. 11, p. 812-814, 1981.

ILG, R. **Avaliação de métodos de controle de qualidade e adulteração de mel, utilizando adulterações simuladas.** 1988. 100p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1988.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 20 fev. 2011.

INTERNATIONAL TRADE FORUM. Upswing in the honey market. **International Trade Forum**, Geneva, v. 13, n. 3, p. 21-31, 1977.

LASCEVE, G.; GONNET, M. Analyse por radioactivation du contenu mineral d'un miel. Possibilité de preciser son origine. **Apidologie**, Versailles, v. 5, n. 3, p. 201-223, 1974.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Biossíntese de carboidrato. In: SIMÕES, A. A.; LODI, W. R. N. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995. cap. 19, p. 444-476.

LIEVEN, M. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do mel comercializado no extremo sul da Bahia. **Revista Baiana de Saúde Pública**, Salvador, v. 33, n. 4, p. 544-552, 2009.

LOPES, M. T. R. As boas práticas na colheita e qualidade do mel. Embrapa. 2008. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/artigos/2008/as-boas-praticas-na-colheita-e-qualidade-do-mel>>. Acesso em: 13 ago. 2009.

MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G. S.; MORETI, A. C. C. C. **Mel brasileiro**: composição e normas. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2004. 111 p.

MATUELLA, M.; TORRES, W. S. Teste da qualidade microbiológica do mel produzido nos arredores do lixão do município de Chapecó – SC. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 70, p. 73-77, 2000.

MENDES, C. de G. et al. As análises de mel: revisão. **Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 2, p. 7-14, 2009.

MERCOSUL. Regulamento Técnico Mercosul “Identidade e Qualidade do Mel”. Resolução GMC N°15/94. Montevideu, 1999.

MIDURA, T. F. Update: infant botulism. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 9, n. 2, p. 119-125, 1996.

MIGDAL, W. et al. Microbiological decontamination of natural honey by irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 57, p. 285-288, 2000.

MOLAN, P. C. Honey as an antimicrobial agent. In: MIZRAHI, A.; LENSKEY, Y. **Bee products**. New York: Plenum Press, 1996. p. 27-37.

MORAES, R. M.; TEIXEIRA, E. W. **Análise de mel**. Pindamonhangaba: Centro de Apicultura Tropical, 1998. 41 p.

MOREIRA, R. F. A.; MARIA, C. A. B. Glicídios no mel. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 516-525, 2001.

MORETI, A. C. C. C. Pólen: alimento protéico para as abelhas: complemento alimentar para o homem. 2006. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/Polen/index.htm>. Acesso em: 28 fev. 2011.

NATIONAL HONEY BOARD. Properties of honey. Disponível em: <<http://www.nhb.org/properties/index.html>>. Acesso em: 15 fev. 2011.

ORTIZ-VALBUENA, A. The ash content of 69 honey samples from La Alcarria and neighbouring areas, collected in the period 1985-87. **Cuadernos de Apicultura**, Guadalajara, n. 5, p. 8-9, 1988.

PAMPLONA, B. C. **Exame dos elementos químicos inorgânicos encontrados em méis brasileiros de *Apis mellifera* e suas relações físico-biológicas**. 1989. 131 f. Dissertação (Mestrado)-Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

PARAMÁS, A. M. G. et al. HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). **Food Chemistry**, London, v. 95, p. 148-156, 2006.

PAULA NETO, F. L. de; ALMEIDA NETO, R. M. de. Apicultura nordestina: principais mercados, riscos e oportunidades. Série Documentos do ETENE, Fortaleza, n. 12, 2006. 78 p.

PEREIRA, L. L. **Análise físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* e Meliponíneos**. 2010. 85p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

PEREIRA, F. de M. et al. Produção de mel. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/index.htm>>. Acesso em: 27 fev. 2011.

PEROSA, J. M. Y.; ARAUCO, E. M. R.; SANTOS, M. L. de A.; ALBARRACIN, V. N. Parâmetros de competitividade do mel brasileiro. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 34, n. 3, 2004.

PIANA, M. L. et al. Sensory analysis applied to honey: state of the art. **Apidologie**, Versailles, v. 35, p. S26–S37, 2004.

PÓLO CUESTA. Pólo Regional de Desenvolvimento Turístico. Disponível em: <<http://www.polocuesta.com.br/polo.asp>>. Acesso em: 01 mar. 2011.

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

ROSSI, N. F. et al. Análise da adulteração de méis por açúcares comerciais utilizando-se a composição isotópica de carbono. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 199-204, 1999.

SATO, T.; MIYATA, G. The nutraceutical benefit, Part III. Honey. **Nutrition**, New York, v. 16, n. 6, 2000.

SEBRAE/RN. Programa de desenvolvimento da apicultura no Rio Grande do Norte – mercado. Disponível em: <<http://www.sebraern.com.br/apicultura>>. Acesso em: 27 fev. 2011.

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

SERRANO, S.; VILLAREJO, M. R. E.; JODRAL, M. Chemical and physical parameters of Andalusian honey: classification of *Citrus* and *Eucalyptus* honeys by discriminant analysis. **Food Chemistry**, London, v. 87, n. 4, p. 619-625, 2004.

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

SILVA, K. F. N. L. et al. Características físico-químicas de mel produzido em Limoeiro do Norte durante o armazenamento. **Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 4, p. 246-254, 2009.

SILVA, R. do N. et al. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 337-341, 2003.

SNOWDON, J. A.; CLIVER, D. O. Microorganisms in honey. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, p. 1-26, 1996.

SOUZA, C. R. **Determinação da pureza dos méis comercializado nas regiões sul e sudeste do Brasil, através dos isótopos estáveis do carbono**. 2007. 37 f. Trabalho de Conclusão (Bacharelado - Ciências Biológicas)-Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

SOUZA-KRULISKI, C. R. et al. Estudo de adulteração em méis brasileiros através de razão isotópica do carbono. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 434-439, 2010.

TERRAB, A. et al. Characterization of northwest Moroccan honeys by gas chromatographic-mass spectrometric analysis of their sugar components. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 82, p. 179-185, 2001.

VARGAS, T. **Avaliação da qualidade do mel produzido na região dos Campos Gerais do Paraná**. 2006. 148 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. Características do mel. **Boletim Técnico – PIE-UFES**: 01107, 2007.

VERMEULEN, L.; PELERENTS, C. Suiker, fosfor en ijzergehalte van Belgische Honing. **Mededelingen Landbouwhogeschool Gent**, Belgiun, v. 30, n. 2, p. 527-541, 1965.

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

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, 2008.

WHITE JUNIOR, J. W. La miel. In: DADANT, H. **La colmena y la abeja mellifera**. Montevideo: Hemisferio Sul, 1989. cap.1. p. 21-35.

WHITE JUNIOR, J. W. Internal standard stable carbon isotopic ratio method for determination of C4 plant surges in honey: collaborative study, and evaluation of improved protein preparation procedure. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 75, p. 543-8, 1992.

WHITE JUNIOR, J. W. Honey. In: GRAHAN, J. M. **The hive and the honey bee**. Illinois: Dadant & Sons, 1993. cap. 21, p. 871-925.

WHITE JUNIOR, J. W. The role of HMF and diastase assays in quality evaluation. **Bee World**, Bucks, v. 75, n. 3, p. 104-117, 1994.

WHITE JUNIOR, J. W.; DONER L. W. Mass spectrometric detection of high-fructose corn syrup in honey by use of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio: collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 61, p. 746-750, 1978a.

WHITE JUNIOR, J. W.; DONER L. W. The $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio in honey. **Journal of Apicultural Research**, London, v. 17, p. 94-99, 1978b.

WHITE JUNIOR, J. W.; WINTERS, K. Honey protein as internal standard for stable carbon isotope ratio detection of adulteration of honey. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 72, p. 907-911, 1989.

WHITE JUNIOR, J. W.; SUBERS, M. H.; SCHEPARTZ, A. I. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 73, p. 57-70, 1963.

CAPÍTULO 2

**QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DO MEL DE *Apis mellifera* L.
PRODUZIDO NA REGIÃO DO PÓLO CUESTA, ESTADO DE SÃO PAULO
HYGIENIC QUALITY HONEY OF *Apis mellifera* L. PRODUCED IN THE
REGION OF THE POLE CUESTA, STATE OF SAO PAULO**

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a qualidade higiênico-sanitária do mel produzido na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo, por meio da enumeração do Número Mais Provável de Coliformes Totais e Termotolerantes, contagem de bolores e leveduras e atividade de água. Foram coletadas 37 amostras de méis de diferentes floradas produzidas por abelhas *Apis mellifera* L. em apiários distribuídos na região. As amostras de mel foram coletadas no momento do beneficiamento, acondicionadas em embalagens plásticas do apiário e armazenadas à temperatura ambiente. Todas as análises foram realizadas segundo as recomendações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu. Todas as amostras revelaram-se negativas quanto à presença de coliformes totais e termotolerantes e 34 (91,9%) apresentaram contaminação por bolores e leveduras, variando entre 10^2 até 10^5 UFC/g. Quanto a atividade de água, os menores valores foram observados na florada de laranja com média de $0,575 \pm 0,01$ Aa, diferindo significativamente das floradas de eucalipto ($0,629 \pm 0,02$ Aa) e silvestre ($0,614 \pm 0,02$ Aa). Conclui-se que a qualidade microbiológica do mel produzido na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo apresenta-se satisfatória.

PALAVRAS-CHAVE: mel, qualidade, coliformes, bolores, leveduras

SUMMARY

The objective of this study was to characterize the hygienic quality of the honey produced in the Pólo Cuesta region of São Paulo state by enumerating the Most Probable Number of Total Coliforms and Thermotolerants, by counting yeasts and molds, and by water activity. Thirty-seven samples of honey of flowerings produced by *Apis mellifera* L. bees in apiaries spread throughout the region were collected. The

honey samples were collected at processing, kept in plastic packages of the apiary, and stored in room temperature. All the analyses were carried out according to the recommendations of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply in the Laboratory of Food Microbiology of the Bioscience Institute at UNESP - Botucatu. All the samples proved negative as to the presence of total coliforms and thermotolerants and 34 (91.9%) of them presented some contamination by yeasts and molds ranging from 10^2 to 10^5 UFC/g. As to water activity, the lowest values were observed in the orange flowering with an average of 0.575 ± 0.01 Aa, which is significantly different from the eucalyptus flowering (0.629 ± 0.02 Aa) and from the sylvestral one (0.614 ± 0.02 Aa). It is concluded that the microbiological quality of the honey produced in the Pólo Cuesta region of São Paulo state proves satisfactory.

KEY WORDS: honey, quality, coliforms, yeasts, molds

INTRODUÇÃO

Embora o mel, por suas características físicas e químicas, apresente elevado grau de resistência diante da proliferação de microrganismos, a ação de fatores externos, como ambientais, condições de manipulação e estocagem, pode influenciar negativamente em sua qualidade final. Os microrganismos podem ser introduzidos no mel pela própria abelha ou pela falta de higiene na extração e beneficiamento, que incluem pólen, néctar floral, poeira, terra e o próprio corpo e trato digestório da abelha, além de fungos e algumas bactérias (Snowdon e Cliver, 1996; Duarte et al., 2006; Lieven et al., 2009).

Fontes primárias de contaminação microbiana no mel (antes da colheita) são muito difíceis de controlar, como por exemplo: o pólen, o aparelho digestivo das abelhas melíferas, pó, ar, solo e néctar. As fontes secundárias (depois da colheita) que influenciam qualquer produto alimentício também são fontes de contaminação para o mel (manipuladores, contaminação cruzada, equipamentos e instalações). Estas fontes secundárias podem ser controladas por meio de Boas Práticas de Fabricação (Snowdon e Cliver, 1996). A capacitação de apicultores e manipuladores para procedimentos de colheita, beneficiamento, envase e armazenamento, são essenciais para melhorar a qualidade do mel.

Atualmente, a legislação brasileira apenas recomenda procedimentos higiênicos para a manipulação do mel (Mercosul, 1999; Brasil, 2000), sem estabelecer parâmetros microbiológicos.

Em função do crescimento da apicultura, faz-se necessário o controle e a fiscalização no cumprimento de normas de higiene indispensáveis para a produção e comercialização adequada do mel, pois alguns produtos comercializados nas cidades podem apresentar contaminação microbiológica e alterações físico-químicas (Lieven et al., 2009).

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a qualidade higiênico-sanitária do mel produzido na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo, por meio da determinação do Número Mais Provável de Coliformes Totais e Termotolerantes, contagem de bolores e leveduras e atividade de água.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das amostras

Foram coletadas 37 amostras de méis produzidas por abelhas *Apis mellifera* L. em diferentes floradas (14 de eucalipto, 12 de laranja e 11 silvestre) no período de março a dezembro de 2010 nos apiários da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo. Estas foram coletadas no momento do beneficiamento, acondicionadas em embalagens plásticas utilizadas pelo apiário e armazenadas à temperatura ambiente.

Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas das amostras foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução Normativa SDA nº 62, de 26 de agosto de 2003 (Brasil, 2003).

Preparo das Amostras e suas diluições

No momento das análises a embalagem foi aberta de forma asséptica, retirando-se 25 g da amostra e colocando-a em sacos de polietileno estéril específico para esse fim. Dentro deste, foi adicionado 225 mL de água peptonada tamponada esterilizada (BPW –

Merck) e levado ao Stomacher Lab Blender 400 por 30 segundos para homogeneização. A partir desta diluição inicial de 10^{-1} , foi preparada uma série de diluições decimais, utilizando-se tubos de ensaio com 9 mL de solução salina a 1% estéril.

Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Esta determinação foi realizada empregando-se a técnica dos tubos múltiplos. Assim, na prova presuntiva, foram inoculadas diluições em volumes de 1 mL, em uma série de três tubos por diluição, contendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato (LST – Difco) e um tubo de Durham invertido. Os tubos foram incubados a 35 °C/24 – 48 horas. Os inóculos positivos revelam-se pela produção de gás no tubo de Durham. A seguir, três alçadas de cada tubo positivo foram repicadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo lactose verde brilhante (CLBVB – Difco) para a confirmação da presença de coliformes totais (CT) e outras três alçadas foram repicadas em tubo de ensaio com 5 mL de caldo EC (EC – Difco) para a confirmação de coliformes termotolerantes. Todos os tubos de CLBVB foram incubados a 35 °C/48 horas em estufa e o caldo EC, a 45 °C/24 horas em estufa BOD. Após o período de incubação, foi realizada a leitura pela observação da presença de gás no tubo de Durham invertido. A seguir, utilizando-se a tabela do Número Mais Provável, foram calculados os NMP de coliformes totais e termotolerantes por grama de amostra analisada (Brasil, 2003).

Contagem de Bolores e Leveduras

Foi utilizada a técnica da semeadura em superfície. Assim, um inóculo de 0,1 mL de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4}) foi depositado na superfície do ágar batata dextrose (Difco), acidificado com ácido tartárico (pH 3,5). Após período de incubação a temperatura ambiente por cinco dias, foi realizada a contagem na placa entre 15 e 150 UFC. O resultado foi corrigido e expresso em UFC/g (Brasil, 2003).

Atividade de Água

Para essa determinação foi utilizado o aparelho Aqualab, que utiliza a técnica de determinação do ponto de orvalho em espelho encapsulado para medir a atividade de

água de um produto. Esta técnica é originária da medida de umidade relativa aprovada pelo A.O.A.C. (1998).

Análise Estatística

Foi realizada análise de variância com aplicação do teste de Tukey para comparação de médias com nível de 5% de significância (Zar, 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas as análises das amostras obtidas diretamente de produtores da região do Pólo Cuesta para determinação do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes, enumeração de bolores e leveduras e atividade de água.

Todas as amostras revelaram-se negativas quanto à presença de coliformes totais e termotolerantes, oferecendo segurança quanto à presença de patógenos entéricos. Esse resultado era esperado, pois segundo Snowden e Cliver (1996) o mel apresenta baixo número e pouca variedade de microrganismos, devido suas propriedades antimicrobianas que desfavorecem seu crescimento, como a baixa atividade de água (0,5 a 0,6), baixo pH (3,4 a 5,5), alta viscosidade (limita a oxigenação), presença do sistema glicose-oxidase (que leva à produção de peróxido de hidrogênio), além da presença de várias substâncias como lisozima, ácidos fenólicos, terpenos, etc.

Os resultados encontrados corroboram com os de Alves et al. (2009) que analisaram 24 amostras de mel orgânico produzido em apiários localizados no alto rio Paraná (PR), sendo que as amostras analisadas apresentaram contagem de coliformes totais e termotolerantes menor que 3,0 NMP/ g de mel.

Alguns trabalhos referentes à microbiologia do mel demonstraram valores semelhantes aos valores do presente trabalho (<3,0UFC/ g). Alguns desses estudos são: Sodré et al. (2007), os quais analisaram 58 amostras de mel do Ceará (20) e Piauí (38), Rall et al. (2003) que observaram a ausência de *Salmonella sp*, *Shigella sp* e coliformes totais em 100 amostras pesquisadas e Iurlina e Fritz (2005) que também não observaram a presença de coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella sp* ou *Shigella sp* nas 70 amostras de mel analisadas na Argentina.

Vargas (2006) ao analisar 80 amostras de mel provenientes de municípios dos Campos Gerais do Paraná, observou contaminação por coliformes totais maior que 3

NMP/g em apenas duas amostras e em nenhuma das amostras foi detectado a presença de coliformes termotolerantes e *Salmonella sp.*

Na Tabela 1 encontra-se a classificação da contaminação do mel por bolores e leveduras, de acordo com a florada, separada por faixas ($\log_{10}$). Pode-se observar que das 37 amostras de mel analisadas, 34 (91,9%) apresentaram contaminação por bolores e leveduras, variando entre 10^2 até 10^5 UFC/g e a faixa onde ocorreu a maior contaminação foi a que variou entre 10^2 a 10^3 UFC/g.

Tabela 1 - Classificação da contaminação do mel por bolores e leveduras, de acordo com a florada, separada por faixas ($\log_{10}$)

Faixa ($\log_{10}$)	n	Florada de Eucalipto (n = 14)	Florada de Laranja (n = 12)	Florada Silvestre (n = 11)
10^2	8	5 (38,5%)	2 (20,0%)	1 (9,0%)
$10^2 \text{ } \vdash \text{ } 10^3$	12	7 (53,8%)	2 (20,0%)	3 (27,3%)
$10^3 \text{ } \vdash \text{ } 10^4$	9	1 (7,7%)	4 (40,0%)	4 (36,4%)
$10^4 \text{ } \vdash \text{ } 10^5$	5	0	2 (20,0%)	3 (27,3%)
Total	34	13 (92,8%)	10 (83,3%)	11 (100,0%)

Resultados semelhantes foram encontrados por Matuella e Torres (2000) que ao analisarem amostras de mel produzidas nos arredores de um aterro sanitário do município de Chapecó - SC encontraram contagens entre $3,2 \times 10^2$ e $1,2 \times 10^4$ UFC/g. Segundo Iurlina e Fritz (2005), altas contagens podem indicar contaminação recente, devido manipulação inadequada, ou seja, a contaminação por bolores e leveduras pode ocorrer durante manipulação e envase.

Snowdon e Cliver (1996) consideraram que leveduras são um dos microrganismos mais importantes que interferem na qualidade do mel. Geralmente presentes nas amostras deste alimento, podendo ser detectadas em altas concentrações, pois sobrevivem sob condições ácidas e não são inibidas pela sacarose. Essas leveduras osmofílicas (tolerantes ao açúcar) representam um problema na indústria do mel, pois têm capacidade de crescer em baixa atividade de água.

O valor absoluto da atividade de água dá indicação segura do conteúdo de água livre do alimento, sendo esta a única forma de água utilizada por parte dos

microrganismos. Os bolores e leveduras se destacam pela elevada tolerância a baixa Aa (Hoffmann, 2001).

A média dos resultados referentes à atividade de água para as diferentes floradas estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores médios da atividade de água por florada

Florada	Aa
Eucalipto	0,629±0,02 ^A
Laranja	0,575±0,01 ^B
Silvestre	0,614±0,02 ^A

Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$)

O menor valor de atividade de água e a menor porcentagem de amostras contaminadas por bolores e leveduras (83,3%) foi observado na florada de laranja (0,575 ±0,01 Aa), evidenciando que o valor da atividade de água está diretamente correlacionado com o desenvolvimento de bolores e leveduras. A atividade de água não é um parâmetro regulamentado pela legislação brasileira, porém segundo Mendes et al. (2006) os valores de atividade de água críticos (Aa acima de 0,61) contribuem para o desenvolvimento de leveduras osmotolerantes, as quais podem conduzir o mel à fermentação, prejudicando a sua vida de prateleira, portanto o resultado dessa análise pode avaliar a qualidade do mel. De acordo com Franco e Landgraf (1996), os valores limítrofes de atividade de água (Aa) para a multiplicação de bactérias halofílicas, bolores xerofílicos e leveduras osmofílicas são, respectivamente, 0,75; 0,65; 0,61, sendo que, a Aa do mel varia de 0,54 a 0,75.

Os resultados obtidos corroboram com os de Denardi et al. (2005) que ao analisarem amostras de mel comercializado na cidade de São Paulo, obtiveram valor médio de atividade de água de 0,578 Aa, Mendes et al. (2006) que analisaram amostras de mel produzida no Pantanal (0,548 Aa a 0,624Aa) e Schlabit et al. (2010) que analisaram amostras de mel da região do Vale do Taquari/RS, provenientes de diversas floradas (0,54 Aa a 0,62 Aa). Já Bendini e Souza (2008) ao analisarem amostras de mel da florada de cajueiro obtiveram média superior ao do presente trabalho (0,72 Aa).

Referente à quantidade de água no mel, a alta higroscopicidade do produto é uma característica que deve ser considerada. O ambiente com alta umidade relativa induz a

trocas em sua composição, alterando a Aa e, conseqüentemente, favorecendo a deterioração (Denardi et al., 2005).

As análises microbiológicas do presente trabalho foram realizadas apenas com a finalidade de busca de dados sobre a qualidade higiênica do mel produzido na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo, pois a legislação brasileira apenas recomenda procedimentos higiênicos para a manipulação do mel (Mercosul, 1999; Brasil, 2000), sem estabelecer parâmetros microbiológicos.

As análises realizadas fazem parte das exigências da Portaria nº451, de 19 de setembro de 1997 da Secretária de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde que estabelece como critérios microbiológicos ausência de coliformes totais/g em um lote de cinco amostras, ausência de *Salmonella* spp e *Shigella* spp em 25g da amostra em um lote de dez amostras e presença de bolores e leveduras no máximo em duas amostras de um lote de cinco, com número máximo de 100 UFC/g. No entanto, essa portaria foi revogada pela Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (Brasil, 2001), que não inclui parâmetros microbiológicos para o mel.

CONCLUSÕES

Conclui-se que a qualidade microbiológica do mel produzido na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo apresenta-se satisfatória devido à ausência de bactérias indicadoras da presença de patógeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E.M.; TOLEDO, V. de A.A.; MARCHINI, L.C.; SEREIA, M.J.; MORETI, A.C. de C.C.; LORENZETTI, E.R.; NEVES, C.A.; SANTOS, A.A. Avaliação da presença de coliformes, bolores, leveduras em amostras de mel orgânico de abelhas africanizadas das ilhas do alto do rio Paraná. Ciência Rural, Santa Maria, on line, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC (1998). Official methods of analysis, 16 edition, Rev. 4.

BENDINI, J. N.; SOUZA, D. C. Caracterização físico-química do mel de abelhas proveniente da florada do cajueiro. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n. 02, p.565-567, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Brasília, 2000. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7797>. Acesso em 26 de janeiro de 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, Resolução nº12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Brasília, 2001. Disponível em <http://anvisa.gov.br/legis/resol>. Acesso em 26 de janeiro de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos microbiológicos para análise de alimentos de origem animal e água. Brasília, 2003.

DENARDI, C.A.S.; NISHIMOTO, E.J.; BALIAN, S.C.; TELLES, E.O. Avaliação da Atividade de água e da contaminação por bolores e leveduras em mel comercializado na cidade de São Paulo - SP, Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 64, n.2, p. 219-222, 2005.

DUARTE A.W.F.; LINS S.E.M.; NORMANDE A.C.L.; ALVES M.A.M.; OLIVEIRA E.G. Avaliação da qualidade microbiológica de méis coletados em casas de mel no município de Pão-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 16., 2006. Alagoas. Anais... 2006.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Atheneu, 1996.

HOFFMANN, F.L. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. Brasil Alimentos, São Paulo, n. 9, 2001.

IURLINA, M.O.; FRITZ, R. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v.105, p. 297– 304, 2005.

LIEVEN, M.; CORREIA, K.R.; FLOR, T.L.; FORTUNA, J.L. Avaliação da Qualidade Microbiológica do Mel Comercializado no Extremo Sul da Bahia. Revista Baiana de Saúde Pública, Salvador, v.33, n.4, p.544-552, 2009.

MATUELLA, M.; TORRES, W. S. Teste da qualidade microbiológica do mel produzido nos arredores do lixão do município de Chapecó – SC. Higiene Alimentar, Itapetininga, v.14, n.70, p.73-77, 2000.

MENDES, J.C.; CANO, C.B.; FELSNER, M.L. Avaliação da Qualidade de Méis produzidos no Pantanal pela Atividade de Água e Umidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 16. Anais... Congresso Brasileiro de Meliponicultura, 2., Anais... Aracajú, 2006. Cd-Rom.

MERCOSUL. Regulamento Técnico Mercosul “Identidade e Qualidade do Mel”. Resolução GMC N°15/94. Montevideu, 1999.

RALL, V.L.M.; BOMBO, A.J.; LOPES, T.F.; CARVALHO, L.R; SILVA, M.G. Honey consumption in the state of São Paulo: a risk to human health? Anaerobe, London, v. 9, p. 299-303, 2003.

SCHLABITZ, C.; SILVA, S. A. F.; SOUZA C. F. V. Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos em mel. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, Ponta Grossa, v. 04, n.01, p.80-90, 2010.

SNOWDON, J. A.; CLIVER, D. O. Microorganisms in honey. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 31, p.1-26, 1996.

SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; ROSA, V. P.; MORETI, A. C. de C. C., CARVALHO, C. A. L.; Conteúdo microbiológico de méis de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) dos Estados do Ceará e Piauí. Boletim de Indústria Animal, Nova Odessa, v.64, n.1, p.39-42, 2007.

VARGAS, T. Avaliação da Qualidade do Mel Produzido na Região dos Campos Gerais do Paraná. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.

ZAR, J.H. Bioestatistical analysis. New Jersey: Pretince Hall, 1996.

CAPÍTULO 3

**QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DO MEL DE *Apis mellifera* L. PRODUZIDO
NA REGIÃO DO PÓLO CUESTA, ESTADO DE SÃO PAULO
PHYSICO-CHEMICAL QUALITY OF *Apis mellifera* L. HONEY
IN THE POLO CUESTA REGION, SÃO PAULO STATE**

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade físico-química (umidade, cinzas, pH, acidez, sólidos insolúveis no mel e cor) do mel produzido na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo, conforme recomendação da legislação vigente no Brasil. Foram coletadas 37 amostras de méis de diferentes floradas (14 de eucalipto, 12 de laranja e 11 silvestre) produzidas por abelhas *Apis mellifera* L. em apiários distribuídos na região. As amostras de mel foram coletadas no momento do beneficiamento, acondicionadas em embalagens plásticas e armazenadas à temperatura ambiente. Das amostras analisadas, 14,3% de eucalipto, 75,0% de laranja e 100,0% de silvestre apresentaram valores de umidade superiores ao permitido pela legislação. Os demais parâmetros apresentaram-se em conformidade com a legislação vigente. Com base nas amostras analisadas, o mel produzido por abelhas *Apis mellifera* L. na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo não se enquadra nos parâmetros físico-químico exigidos pela legislação brasileira, devido o alto teor de umidade, o que inviabiliza a comercialização do produto.

Palavras-chave: mel, *Apis mellifera* L., qualidade, físico-química

Summary

The aim of this study was to assess the physico-chemical quality (humidity, ashes, pH, acidity, insoluble solids in the honey and color) of the honey produced in the Polo Cuesta region in São Paulo state according to the recommendation of the current legislation in Brazil. Thirty-seven honey samples of different flowerings (14 eucalyptus, 12 orange and 11 sylvestral) produced by *Apis mellifera* L. bees in apiaries spread throughout the region were collected. The honey samples were collected at melioration, kept in plastic packages of the apiary, and stored in room temperature. From such samples, 14.3% of eucalyptus, 75.0% of orange, and 100.0% of sylvestral presented

humidity values higher than the ones allowed by the legislation. The other variables were presented in accordance with the current legislation. Based on the samples analyzed, the honey produced by *Apis mellifera* L. bees in the Polo Cuesta region is São Paulo State does not meet the physico-chemical parameters required by the Brazilian legislation because high humidity, which impedes the commercialization of the product.

Key-words: honey, *Apis mellifera* L., quality, physico-chemistry

Introdução

Entende-se por mel o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas a partir do néctar das flores ou de secreções procedentes de partes vivas de plantas ou de excreções de insetos sugadores que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas própria, armazenam e deixam maturar nos favos da colméia (Brasil, 2000). O mel contém uma mistura complexa de carboidratos, enzimas, aminoácidos, ácidos, minerais, substâncias aromáticas, vitaminas, pigmentos, ceras e grãos de pólen. Sua composição, cor, aroma e sabor podem ser bastante variados, dependendo principalmente das floradas, das regiões geográficas e condições climáticas (National Honey Board, 2011).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução Normativa Nº11, de 20 de outubro de 2000 – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel estabelece como requisito de qualidade físico-química as análises de umidade (máximo 20%), açúcares redutores (mínimo 65%), sacarose aparente (máximo 6%), sólidos insolúveis em água (máximo 0,1%), Cinzas (máximo 0,6%), acidez (máximo 50 meq.kg⁻¹), atividade diastásica (mínimo 8 na escala de Gothe), hidroximetilfurfural (máximo 60 mg.kg⁻¹), conteúdo de pólen (presença de grãos de pólen) e cor (de quase incolor a pardo escuro).

Considerando o crescente impulso da apicultura na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo e da escassez de informações sobre qualidade do mel produzido, pesquisas são imprescindíveis para contribuir na identificação e melhoria do padrão de qualidade e conseqüentemente, fornecer condições para futura valorização do produto, bem como direcionar atividades de apoio e desenvolvimento.

O objetivo deste trabalho foi a caracterização físico-química (umidade, cinzas, pH, acidez, sólidos insolúveis no mel e cor) do mel produzido na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo, conforme recomendação da legislação vigente no Brasil.

Material e Métodos

Obtenção das amostras

Foram coletadas 37 amostras de méis produzidas por abelhas *Apis mellifera* L. em diferentes floradas (14 de eucalipto, 12 de laranja e 11 silvestre) no período de março a dezembro de 2010 nos apiários da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo. Estas foram coletadas no momento do beneficiamento, acondicionadas em embalagens plásticas utilizadas pelo apiário e armazenadas à temperatura ambiente.

Análises Físico-Químicas

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata e os parâmetros mensurados foram umidade, cinzas, pH, acidez, sólidos insolúveis no mel e cor. Todas foram realizadas em triplicata. Estas foram realizadas conforme recomendação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2000) no Laboratório do Setor de Apicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP de Botucatu.

Umidade

A determinação da umidade foi realizada pelo método refratométrico (A.O.A.C., 1998). Para tal foi utilizado um refratômetro de bancada Abbe. Conforme estabelece o método, para obtenção do valor da umidade do mel, aplica-se o índice de refração (IR) a uma tabela de correspondência entre o IR e a umidade do mel – Tabela de Chataway.

O IR das substâncias líquidas depende da temperatura. Se o mel estiver a exatamente 20°C, pode-se aplicar o IR obtido diretamente a tabela. Porém, para temperaturas feitas em diferentes temperaturas, deve-se acrescentar ou diminuir do IR obtido o valor de 0,00023, para cada °C a mais ou a menos da amostra.

Cinzas

A determinação foi realizada segundo técnica descrita pelo C.A.C. (1990). Desta maneira, pesou-se 5g de mel liquefeito em um cadinho de porcelana previamente tarado.

Este foi aquecido em mufla até ser carbonizado. Em seguida a mufla foi mantida a 600°C por 3 – 4 horas (completa queima). Transcorrido esse período, transferiu-se o cadinho para o dessecador para evitar absorção de água durante o resfriamento. Em seguida foi realizada a pesagem das cinzas.

Para o cálculo e expressão dos resultados foi utilizada a seguinte fórmula:

Cinzas (%) = diferença de peso no cadinho/peso total da amostra utilizada

pH

Baseia-se na determinação da concentração de íon de hidrogênio presentes na solução do mel. Para tal, 10g da amostra foi dissolvida em 75 ml de água destilada, em um béquer de 100 ml. Em seguida, realizou-se a leitura direta no medidor de pH previamente calibrado (A.O.A.C., 1998).

Acidez

Foi realizada segundo técnica descrita pela A.O.A.C.(1998). Depois de realizada a leitura de pH, a solução continuou sendo agitada e adicionou-se 3 gotas de indicador fenolftaleína. Em seguida, foi feita a titulação com hidróxido de sódio 0,1 N, até aparecimento da cor rosa durante 10 segundos. Após o procedimento, realizou-se a leitura do volume de hidróxido de sódio gasto na titulação.

Para o cálculo da acidez foi utilizada a seguinte fórmula:

Acidez (meq.kg⁻¹) = mL hidróxido de sódio gasto x peso da amostra

Sólidos Insolúveis no mel

Segundo o método descrito pelo C.A.C. (1990), determina-se o teor de sólidos insolúveis em mel, por gravimetria. Para tal, 20g de mel foi diluído com a mínima quantidade de água a 80°C e em seguida foi filtrada em cadinho previamente tarado. Após esse procedimento, a amostra foi lavada com água destilada a 80°C até completar o volume de 1000 mL. O cadinho foi colocado em estufa a 135°C durante 1 hora. Em seguida, transferiu o cadinho para o dessecador para o resfriamento e procedeu a pesagem.

Para o cálculo e expressão dos resultados foi utilizada a fórmula:

% de substâncias insolúveis em água = (Px100)/P'

Sendo:

P = peso em g de insolúveis (diferença de peso no cadinho)

P' = peso em g da amostra utilizada

Cor

Baseia-se nos diferentes graus de absorção da luz de vários comprimentos de onda, dependendo dos constituintes presentes na amostra de mel. Para tal foi utilizado um espectrofotômetro que opera em 560nm em célula de 1cm, usando-se como branco água destilada. Após proceder a leitura, o valor obtido foi comparado com a escala de cores de Pfund (Vidal e Fregosi, 1984).

Análise Estatística

Foi realizada análise de variância com aplicação do teste de Tukey para comparação de médias com nível de 5% de significância (Zar, 1996).

Resultados e Discussão

Os resultados das análises físico-químicas das amostras de mel das floradas de eucalipto, laranja e silvestre estão descritos nas Tabelas 1, 2.

Tabela 1 – Resultados dos intervalos (mínimo e máximo) das análises físico-químicas (umidade, cinzas, pH, acidez, sólidos insolúveis e cor) das amostras de mel das floradas de eucalipto, laranja e silvestre produzidas na região do Pólo Cuesta do Estado de SP.

Florada	Eucalipto	Laranja	Silvestre
Análise FQ			
Umidade (%)	17,9 - 21,1	18,3 - 22,9	20,9 - 25,9
Cinzas (%)	0,23 - 0,56	0,02 - 0,37	0,07 - 0,51
pH	3,61 - 4,27	3,81 - 4,82	3,78 - 4,68
Acidez (meq.kg ⁻¹)	7,50 - 16,30	2,50 - 7,50	5,07 - 17,66
Sólidos Insolúveis (%)	0,03 - 0,09	0,01 - 0,09	0,01 - 0,08
Cor	âmbar claro	extra branco a âmbar	branco a âmbar

Tabela 2 – Valores médios dos parâmetros analisados para as floradas de eucalipto, laranja e silvestre

Florada	Umidade (%)	Cinzas (%)	pH	Acidez (meq.kg ⁻¹)	Sol. Ins. (%)
Eucalipto	19,43±1,0 ^A	0,370±0,01 ^A	3,90±0,02 ^A	11,61±2,90 ^A	0,06±0,02 ^A
Laranja	20,70±1,4 ^A	0,125±0,10 ^B	4,17±0,3 ^B	3,73±1,4 ^B	0,05±0,03 ^A
Silvestre	23,70±1,9 ^B	0,254±0,16 ^A	4,10±0,4 ^{AB}	7,70±3,5 ^C	0,04±0,02 ^A
Legislação	máximo 20	máximo 0,6	-	máximo 50	máximo 0,1

Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística entre as médias (p<0,05)

As amostras da florada de eucalipto apresentaram valores de umidade variando de 17,9% a 21,1%. Já as da florada de laranja, apresentaram valores de umidade entre 18,3% a 22,9% e as da florada silvestre entre 20,9% a 25,9% (Tab. 1).

Avaliando-se os valores médios de umidade, observou-se que o mel proveniente da florada silvestre apresentou valor maior 23,70±1,9 (p<0,05) em relação às floradas de laranja 20,7±1,4 e eucalipto 19,43±1,0 (Tab. 2).

Komatsu (1996) verificou valores de umidades entre 16,6% a 20,2% em méis de eucalipto e de 16,4% a 21,5% em méis de laranja. Já Marchini *et al.* (2003) obtiveram valores de umidade entre 21,8% e 24,4 % em méis monoflorais de eucalipto, produzidos em Piracicaba na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP). Em outro estudo de Marchini *et al.* (2005) verificaram valores de umidade entre 16,0% e 23,4% em méis de florada silvestre e 19,3% e 22,4% em méis de eucalipto.

Em méis do estado de São Paulo, Vilhena e Almeida-Muradian (1999a) encontraram umidades entre 15,2% e 16,8% para mel de laranja, 16,0% a 20,0% para mel silvestre e 16,2% em uma amostra declarada como de eucalipto. Finco *et al.* (2010) ao analisarem 24 amostras de mel de origens florais diversas da região Sul do estado do Tocantins, obtiveram valores de umidade variando de 18,9 a 21%. Sendo que 33,0% das amostras analisadas estavam em desacordo com a legislação vigente.

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (Brasil, 2000), o mel deve ter no máximo 20,0% de umidade. Dessa maneira, das amostras analisadas no presente trabalho, 14,3% da florada de eucalipto, 75,0% da florada de laranja e 100,0% da florada silvestre, apresentaram valores de umidade superiores ao permitido pela legislação.

Segundo Vargas (2006), altos conteúdos de umidade podem evidenciar a colheita prematura do mel, em um momento em que os favos não estejam totalmente

operculados e o mel ainda não esteja “maduro”, isto é, quando o néctar ou melato não foi completamente transformado. Os dados obtidos sugerem que os produtores de produtos apícolas têm maior preocupação com o aumento da produção e comercialização, deixando de lado o controle da qualidade durante a extração do mel.

Desta forma, é importante que as condições de colheita, processamento e armazenamento das amostras sejam avaliadas, de forma a identificar a provável causa dos elevados e inadequados valores de umidade encontrados nas amostras analisadas.

As amostras da florada de eucalipto apresentaram valores de cinzas variando de 0,23% a 0,53%. Já as da florada de laranja, apresentaram valores entre 0,02% a 0,37% e as da florada silvestre entre 0,07% a 0,51% (Tab. 1).

Avaliando-se os valores médios de cinzas, observou-se que o mel proveniente da florada de laranja apresentou valor menor $0,125 \pm 0,10$ ($p < 0,05$) em relação às floradas de eucalipto $0,370 \pm 0,01$ e silvestre $0,254 \pm 0,16$ (Tab. 2).

Vilhena e Almeida-Muradian (1999a) encontraram teores de cinzas em méis de laranjeira variando de 0,03 a 0,05% e em uma amostra de mel de eucalipto o valor encontrado foi de 0,37%. Nas amostras de mel silvestre os teores variaram de 0,10 a 0,29%. Marchini *et al.* (2005) obtiveram valores de 0,03 a 0,92% de cinzas em mel silvestre e de 0,07 a 0,32% em mel de eucalipto. Schlabit *et al.* (2010), analisando o mel produzido por apicultores da região do Vale do Taquari/RS, obtiveram valores de cinzas variando de 0,09 a 0,54%. Finco *et al.* (2010) encontraram valores de cinza variando de 0,01 a 0,30% em amostras de mel da região Sul do Tocantins.

O teor de cinzas expressa diretamente a quantidade de minerais presentes no mel. A legislação brasileira para o mel (Brasil, 2000), aceita o máximo de 0,60% de cinzas. Assim, todas as amostras analisadas no presente trabalho apresentam-se em conformidade com a legislação.

O teor mineral do mel está diretamente relacionado com o tipo do solo e condições climáticas (Montenegro e Fredes, 2008). Aquarone *et al.* (2007), estudando méis argentinos, encontraram resultados semelhantes de cinzas para amostras oriundas de diferentes solos, sugerindo que a origem floral seja a maior responsável pelo conteúdo mineral das amostras.

A legislação brasileira não estabelece limite para valor de pH no mel, no entanto, valor muito baixo ajuda a evidenciar adulterações por xarope de sacarose ou amido

invertido por hidrólise ácida. Já valor muito alto sugere adição de calda de sacarose sem adição de ácido (Vargas, 2006).

As amostras da florada de eucalipto apresentaram valores de pH variando de 3,61 a 4,27. Já as da florada de laranja, apresentaram valores de 3,81 a 4,82 e as da florada silvestre de 3,78 a 4,68 (Tab. 1)

Avaliando-se os valores médios de pH, observou-se que o mel proveniente da florada de eucalipto apresentou valor menor $3,90 \pm 0,02$ ($p < 0,05$) em relação a florada de laranja $4,17 \pm 0,3$. Já a florada silvestre $4,10 \pm 0,4$ não diferiu da florada de eucalipto e laranja (Tab. 2).

Vargas (2006) ao analisar mel de diversas origens florais, obteve valores de pH variando de 3,6 a 5,35. Sodré *et al.* (2002), sem especificar a origem floral das suas amostras, verificaram valores de pH variando de 3,37 a 4,46 em méis do litoral da Bahia. Finco *et al.* (2010) obtiveram valores variando entre 3,35 e 4,50 nas amostras coletadas na região Sul do Tocantins. Lacerda *et al.* (2010) obtiveram medidas de pH variando de 3,6 a 5,3 em amostras de mel do sudoeste da Bahia.

Os valores de acidez para a florada de eucalipto variaram de 7,50 a 16,30 meq.kg⁻¹. Já os da florada de laranja, ficaram entre 2,50 a 7,50 meq.kg⁻¹ e os da florada silvestre entre 5,07 a 17,66 meq.kg⁻¹. Todas as amostras estão de acordo com a legislação, que estabelece valor máximo de 50 meq.kg⁻¹ (Tab. 1).

Avaliando-se os valores médios de acidez, observou-se que o mel das floradas de eucalipto $11,61 \pm 2,90$, laranja $3,73 \pm 1,4$ e silvestre $7,70 \pm 3,5$ diferiram entre si ($p < 0,05$).

Vilhena e Almeida-Muradian (1999a) encontraram valores de acidez de 13,54 a 22,27 meq kg⁻¹ em méis de laranjeira e de 20,31 meq kg⁻¹ para mel de eucalipto. Marchini *et al.* (2005) obtiveram valores de 14,0 a 75,5 meq kg⁻¹ em méis silvestre e de 12,5 a 55 meq kg⁻¹ em méis de eucalipto. Vargas (2006) ao analisar mel de diversas origens florais, obteve valores de acidez que variaram de 10,27 a 62,71 meq kg⁻¹, sendo que as amostras de flor de laranjeira foram as que apresentaram os menores valores de acidez, o que condiz com o sabor característico e suave do mel de laranjeira. Lacerda *et al.* (2010), obtiveram valores de acidez variando de 15,65 a 61,00 meq kg⁻¹ em 24 amostras de mel coletadas no sudoeste da Bahia.

Todos os valores obtidos para sólidos insolúveis apresentaram-se dentro do parâmetro da legislação, a qual estabelece um máximo de 0,1% (Brasil, 2000). Os

sólidos insolúveis estão relacionados com o teor de sujidades do mel (Vilhena e Almeida-Muradian, 1999b).

Todas as amostras da florada de eucalipto apresentaram cor âmbar claro. Já as da florada de laranja, apresentaram cor variando de extra branco a âmbar e as da florada silvestre variaram de branco a âmbar. De maneira geral, a predominância foi da cor âmbar claro. A coloração extra branco foi observada somente nas amostras de laranja. Resultado semelhante ao do presente trabalho foi observado por Vargas (2006) que observaram maior incidência da cor âmbar claro e nas amostras silvestres a coloração variou de branco a âmbar escuro.

A cor é uma das características determinantes para a escolha do consumidor, que na maioria das vezes escolhe o produto apenas pela aparência. Variações apresentadas na cor do mel estão relacionadas à sua origem floral, processamento e armazenamento, fatores climáticos durante o fluxo do néctar e a temperatura na qual o mel amadurece na colméia (Seemann e Neira, 1988). No mercado mundial, o mel é avaliado por sua cor e méis claros alcançam preço mais alto que os escuros (Crane, 1983). No entanto, os méis de cor escura são mais ricos em sais minerais, em vitaminas B e C, e possuem aroma mais acentuado que os méis de cor clara Lacerda *et al.* (2010).

Lacerda *et al.* (2010), correlacionaram a cor dos méis com as outras características físico-químicas, aplicando análise multivariada em amostras provenientes da região sudoeste da Bahia. Esta análise evidenciou que a cor dos méis possui correlação com outros parâmetros físico-químicos (acidez, pH, umidade, cinzas, condutividade elétrica, sólidos solúveis, conteúdo mineral) sendo indicador da composição do produto.

Conclusões

Com base nas amostras analisadas, o mel produzido por abelhas *Apis mellifera* L. na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo não se enquadra nos parâmetros físico-químico exigidos pela legislação brasileira, devido o alto teor de umidade, o que inviabiliza a comercialização do produto.

Referências Bibliográficas

ACQUARONE C, BUERA P, ELIZALDE B (2007). Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. Food Chemistry, v. 101, p. 695-703.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC (1998). Official methods of analysis, 16 edition, Rev. 4.

BRASIL (2000). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (Brasília). Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7797>. Acesso em 26 de janeiro de 2011.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION – CAC (1990). Official methods of analysis, v. 3, supl. 2.

CRANE E (1983). O livro do mel. Editora Nobel (São Paulo), 226p.

FINCO FDBA, MOURA LL, SILVA IG (2010). Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.30, n.3, p.706-712.

KOMATSU SS (1996). Caracterização físico-química de méis de *Apis mellifera* L., 1758 (HYMENOPTERA: APIDAE) de diferentes municípios de São Paulo. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

LACERDA JJ de J, SANTOS JS dos, SANTOS SA dos, RODRIGUES GB, SANTOS MLP dos (2010). 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, n. 5, p.1022-1026.

MARCHINI LC, MORETI, AC de CC, SILVEIRA NETO S (2003). Características físico-químicas de amostras de mel e desenvolvimento de enxames de *Apis mellifera* L., 1758 (HYMENOPTERA:APIDAE), em cinco diferentes espécies de eucaliptos. Boletim CEPPA, v.21, n.1, p.193-204.

MARCHINI LC, MORETI AC de CC, OTSUK IP (2005). 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, n.1, p.8-17.

MONTENEGRO G, FREDES C. Relación entre el origen floral y el perfil de elementos minerales en mieles chilenas (2008). Gayana Botanica, v. 65, n. 1, p. 123-126.

NATIONAL HONEY BOARD. About honey. Disponível em: <http://www.honey.com/nhb/about-honey/>. Acesso em 15/02/2011.

SCHLABITZ C, SILVA SAF, SOUZA CFV (2010). Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos em mel. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 04, n.01, p.80-90.

SEEMANN P, NEIRA M (1988). Tecnología de la producción apícola. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias Empaste (Valdivia).

SODRÉ G da S, MARCHINI LC, CARVALHO CAL de (2002). Características físico-químicas de amostras de méis de abelhas *Apis mellifera* da região litoral norte do estado da Bahia. Revista de Agricultura, v.77, fasc.2, p.243-254.

VARGAS T (2006). Avaliação da Qualidade do Mel Produzido na Região dos Campos Gerais do Paraná. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa.

VIDAL R, FREGOSI EV de (1984). Mel: Características, análises físico-químicas, adulterações e transformações. Instituto Tecnológico Científico “Roberto Rios” (Barretos).

VILHENA F, ALMEIDA-MURADIAN LB de (1999a). Análises físico-químicas de méis de São Paulo. Mensagem Doce, n.53.

VILHENA F, ALMEIDA-MURADIAN LB de (1999b). Manual de análises físico-químicas do mel. APACAME (São Paulo).

ZAR JH (1996). Bioestatistical analysis. Pretince Hall (New Jersey).

CAPÍTULO 4

**ANÁLISE ISOTÓPICA DE CARBONO-13 PARA DETECÇÃO DE
ADULTERAÇÃO EM MÉIS DE *Apis mellifera* L. PRODUZIDO NA REGIÃO
DO PÓLO CUESTA, ESTADO DE SÃO PAULO
CARBON-13 ISOTOPIC ANALYSIS FOR DETECTING ADULTERATION IN
THE HONEY (*Apis mellifera* L.) PRODUCED IN THE PÓLO CUESTA
REGION, SÃO PAULO STATE**

Resumo

O objetivo deste trabalho foi analisar os méis produzidos na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo, e indicar a porcentagem, quando houver, de adição de açúcares de plantas do ciclo fotossintético C₄, através da análise da razão isotópica de ¹³C/¹²C, de acordo com o método oficial. Foram coletadas 37 amostras de méis de diferentes floradas (14 de eucalipto, 12 de laranja e 11 silvestre) produzidas por abelhas *Apis mellifera* L. em apiários distribuídos na região. A coleta foi realizada no momento do beneficiamento e as amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas do apiário e armazenadas à temperatura ambiente. As amostras foram submetidas à combustão no Analisador Elementar EA 1108 CHN e analisadas no espectrômetro de massas de razão isotópica DELTA-S (Finningan Mat). Das 37 amostras analisadas, 5 foram consideradas adulteradas (13,5%). A florada de laranja apresentou maior porcentagem (25,0%) de fraude em relação à florada de eucalipto (7,1%) e silvestre (9,1%). Os resultados obtidos mostram que as análises físico-químicas qualitativas são insuficientes na identificação de adulterações e a análise isotópica do carbono-13 mostrou ser uma ferramenta adequada e eficiente para identificação e quantificação de adulterantes no mel.

Palavras-chave: mel, adulteração, isótopos estáveis, carbono-13

Summary

The aim of this study was to analyze the honey produced in the Pólo Cuesta region, São Paulo state, and to indicate the percentage of, if such, added sugar of C₄ photosynthetic cycle plants through the analyzes of the isotopic ratio of ¹³C/¹²C according to the official method. Thirty-seven honey samples of different flowerings (14 eucalyptus, 12 orange, and 11 sylvestral) produced by *Apis mellifera* L. bees in

apiaries spread throughout the region were collected. The samples were collected at melioration, kept in plastic packages of the apiary, and stored in room temperature. They were submitted to combustion at the EA 1108 CHN Elemental Analyzer and analyzed at the DELTA-S isotope ratio mass spectrometer (Finningan Mat). From the 37 samples analyzed, 5 were considered to be adulterated (13.5%). The orange flowering presented a higher percentage (25.0%) of adulteration when compared to the eucalyptus (7.1%) and the sylvestral one (9.1%). The results obtained show that the qualitative physical-chemical analyzes are not enough for identifying adulterations, and the carbon-13 isotopic analysis proved to be an adequate, efficient tool for detecting and quantifying the adulterating agents in the honey.

Key words: honey, adulteration, stable isotopes, carbon-13

Introdução

A partir de 1974, nos Estados Unidos, um novo tipo de adulteração em méis começou a ser realizado por meio da adição de HFCS (High Fructose Corn Syrup). Esta substância possui baixo custo de produção e é obtida a partir de tratamento enzimático do xarope de milho e possui glicose e frutose como os principais elementos de sua composição. A adição de HFCS ao mel não pode ser detectada pela análise do hidroximetilfurfural, até então utilizada para controlar a pureza do mel (White Junior & Doner, 1978, Arauco, 2005, Souza-Kruliski et al., 2010).

Na medida em que novos tipos de adulterações ocorreram, novos métodos analíticos foram desenvolvidos com intuito de detectar tais fraudes. Entre esses métodos, a análise isotópica do carbono é capaz de identificar e quantificar se o mel foi ou não adulterado com açúcar comercial ou xarope de milho (Arauco, 2005; Souza-Kruliski et al., 2010).

As abelhas melíferas utilizam, para a fabricação do mel geralmente as plantas que seguem o ciclo fotossintético C_3 , as quais diferem isotopicamente das plantas do ciclo fotossintético C_4 com diferença de 14‰ (Souza, 2007).

Nos Estados Unidos, desde 1992, a técnica isotópica é considerada método padrão na determinação da adulteração do mel (White Junior, 1992; Rossi et al., 1999). Já, no Brasil esta técnica tem sido pouco empregada, por desconhecimento de seu potencial

como método analítico por parte dos produtores, envasadores e órgãos fiscalizadores (Arauco, 2005, Souza-Kruliski et al., 2010).

Rossi et al. (1999) demonstraram a viabilidade do método na detecção da adição de açúcar de cana (planta C₄) em méis. O trabalho analisou méis de diversas regiões do Estado de São Paulo, quanto a sua origem botânica (laranja, floral e eucalipto - todas plantas C₃), obtendo resultados precisos em suas análises quanto à pureza do mel.

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi analisar os méis produzidos na região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo, e indicar a porcentagem, quando houver, de adição de açúcares de plantas do ciclo fotossintético C₄, através da análise da razão isotópica de ¹³C/¹²C, de acordo com o método oficial por meio da análise isotópica de carbono-13.

Material e Métodos

Obtenção das amostras

Foram coletadas 37 amostras de méis produzidas por abelhas *Apis mellifera* L. em diferentes floradas (14 de eucalipto, 12 de laranja e 11 silvestre) no período de março a dezembro de 2010 nos apiários da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo. Estas foram coletadas no momento do beneficiamento, acondicionadas em embalagens plásticas utilizadas pelo apiário e armazenadas à temperatura ambiente.

Extração da proteína do mel

A proteína foi extraída a partir da diluição de mel em água bidestilada, seguida de clarificação em peneira (100 mesh) e homogeneização. A solução foi tratada com tungstato de sódio (10%) e ácido sulfúrico (2%), seguida de nova homogeneização e tratamento térmico em banho-maria (80°C/4h). A proteína precipitada foi separada por centrifugação (3500 rpm / 5 min). Essa operação foi repetida 5 vezes, utilizando água bidestilada, para a lavagem do precipitado proteico (AOAC, 2000).

Procedimento utilizado para a análise isotópica do mel e sua proteína

Foram pesados, aproximadamente, 100 a 150µg de mel e 450 a 500 µg de sua respectiva proteína (seca), sendo que cada amostra foi colocada em cápsula de estanho.

Essas cápsulas foram dobradas, colocadas no analisador elementar, onde ocorreu a combustão. O CO₂ gerado foi analisado no espectrômetro de massas de razão isotópica.

Análise Isotópica de Carbono-13

As análises isotópicas do carbono foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, Unidade Auxiliar do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu. Para a análise isotópica do mel e da proteína utilizou-se a metodologia oficial da AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2000). As amostras foram submetidas à combustão em espectrômetro de massas de razão isotópica DELTA-S (Finningan Mat) acoplado ao Analisador Elementar EA 1108 CHN.

A porcentagem de adulteração foi determinada pela equação:

$$\% \text{ adulteração} = [(\delta^{13}\text{C}_{\text{proteína}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{mel}})] / [(\delta^{13}\text{C}_{\text{proteína}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{adulterante}})] \cdot 100$$

Na equação, a diferença no valor isotópico ($\delta^{13}\text{C}$) entre a proteína e o mel, com valor de -1‰ corresponde à inclusão de 7% de subprodutos das plantas do ciclo fotossintético C₄. Nesse limite e abaixo desse valor ($\leq -1‰$) ou ($\leq 7\% \text{ C}_4$), o método oficial da AOAC (Association of Analytical Chemists, 2000) considera o mel puro, conseqüentemente valores acima desses ($\geq -1‰$) ou ($\geq 7‰ \text{ C}_4$) são considerados méis adulterados. São considerados como 0%, os valores finais negativos obtidos no cálculo porcentual da adulteração (% C₄).

Na referida expressão, foi utilizado, como valor de adulterante, o valor do HFCS (High Fructose Corn Syrup) ao mel, produto com um custo de produção muito baixo, obtido a partir de tratamento enzimático do xarope de milho e que possui a glicose (50%) e a frutose (42%) como principais elementos de sua composição (-9,7‰). No entanto, poderia ser utilizado o valor isotópico do açúcar invertido (-12,04‰), ou ainda, o valor da glicose de milho (-10,86‰). Optou-se pelo valor do HFCS por ser o utilizado na metodologia oficial AOAC (2000).

Os méis que foram considerados adulterados pelas análises isotópicas do carbono foram submetidos a análises físico-químicas qualitativas (Glicose Comercial, Teste de Fiehe, Reação de Lund e Reação de Lugol).

Análises Físico-Químicas qualitativas

Glicose Comercial: Consiste na adição de glicose comercial ao mel. É o tipo de adulteração mais comum nos méis do comércio. Para tal, foi colocado em um tubo de ensaio 1 mL da amostra a 20%. Em seguida adicionou 2 gotas de ácido clorídrico concentrado e 5 mL de álcool etílico absoluto. Na ocorrência de turbidez na solução, o resultado é positivo (Vidal & Fregosi, 1984).

Teste de Fiehe: A análise baseia-se na identificação de um composto do grupo dos aldeídos denominado hidroximetilfurfural (HMF). Trata-se de uma reação colorimétrica cujo resultado positivo exhibe uma coloração vermelho-cereja (Moraes & Teixeira, 1998).

Reação de Lund: Baseia-se na precipitação de substâncias albuminóides que são componentes naturais do mel, pela ação do ácido tânico. Na presença de mel puro aparecerá precipitado cujo volume poderá variar de 0,6 a 3,0 ml, conforme sua origem floral (negativo). Já no caso de mel adulterado, não haverá formação de precipitado ou este será desprezível, sendo assim o resultado positivo (Vidal & Fregosi, 1984).

Reação de Lugol: Tem como base a reação da solução de lugol com os polímeros provenientes da hidrólise do amido contido no xarope de amido de milho hidrolisado. Trata-se de uma reação colorimétrica cujo resultado positivo apresenta coloração vermelha ou violeta (Moraes & Teixeira, 1998).

Resultados e Discussão

Das 37 amostras analisadas, cinco foram consideradas adulteradas (13,5%), segundo a metodologia oficial (AOAC, 2000). A florada de laranja apresentou maior percentagem (25,0%) de adulteração em relação à florada silvestre (9,1%) e eucalipto (7,1%) (Tabelas 1, 2 e 3).

O valor máximo $\delta^{13}\text{C}$ dos méis puros da florada de eucalipto foi de $-26,51 \text{ }^0_{00}$ e o mínimo de $-27,54 \text{ }^0_{00}$ (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores em $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de mel da florada de eucalipto da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo.

Florada: Eucalipto				
$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$				
Amostra	Mel	Proteína	Diferença	% adulteração
1	-26,82	-28,52	-1,70	9,0
2	-26,51	-27,67	-1,16	6,4
3	-26,96	-26,75	0,22	0
4	-26,86	-27,36	-0,49	2,8
5	-26,91	-27,68	-0,77	4,3
6	-26,70	-26,52	0,18	0
7	-26,85	-27,12	-0,27	1,6
8	-27,00	-26,83	0,17	0
9	-27,12	-27,50	-0,38	2,2
10	-27,44	-28,53	-1,09	5,8
11	-27,30	-26,27	1,03	0
12	-27,54	-27,45	0,09	0
13	-27,28	-27,27	0,01	0
14	-26,99	-27,87	-0,88	4,8
Média $\pm$ DP	-27,02 $\pm$ 0,29	-27,38 $\pm$ 0,67		

O valor máximo $\delta^{13}\text{C}$ dos méis puros da florada de laranja foi de -23,42 ‰ e o mínimo de -25,57 ‰ (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores em $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de mel da florada de laranja da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo.

Florada: Laranja				
$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$				
Amostra	Mel	Proteína	Diferença	% adulteração
1	-23,90	-24,94	-1,04	6,8
2	-24,35	-25,29	-0,94	6,0
3	-24,05	-25,15	-1,11	7,2
4	-23,50	-24,35	-0,86	5,8
5	-23,42	-24,27	-0,85	5,8
6	-21,93	-23,27	-1,35	9,9
7	-25,57	-26,49	-0,91	5,5
8	-23,91	-25,13	-1,22	7,9
9	-24,26	-25,04	-0,78	5,1
10	-24,12	-24,76	-0,64	4,2
11	-24,80	-25,09	-0,29	1,9
12	-24,22	-24,85	-0,63	4,1
Média $\pm$ DP	-24,00 $\pm$ 0,87	-24,88 $\pm$ 0,75		

O valor máximo $\delta^{13}\text{C}$ dos méis puros da florada silvestre foi de -25,06 ‰ e o mínimo de -27,23 ‰ (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores em $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de mel da florada silvestre da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo.

Florada: Silvestre				
$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$				
Amostra	Mel	Proteína	Diferença	% adulteração
1	-25,87	-25,98	-0,11	0,7
2	-20,88	-22,67	-1,80	13,8
3	-26,19	-26,49	-0,30	1,8
4	-26,83	-26,44	0,39	0
5	-25,06	-25,49	-0,42	2,7
6	-25,76	-26,29	-0,53	3,2
7	-26,48	-26,33	0,15	0
8	-26,84	-25,89	0,95	0
9	-27,12	-26,13	0,99	0
10	-27,23	-25,90	1,33	0
11	-26,27	-25,83	0,44	0
Média $\pm$ DP	-25,86 $\pm$ 1,77	-25,76 $\pm$ 1,07		

Das amostras analisada, uma de eucalipto, três de laranja e uma silvestre apresentaram adulteração segundo a metodologia oficial.

Os resultados cujas diferenças entre o valor isotópico ($\delta^{13}\text{C}$) da proteína e do mel forem $\geq -1\text{‰}$, são consideradas amostras adulteradas. Valores negativos e inferiores a esse intervalo, ou seja, $\leq -1\text{‰}$, indicam contaminação por subprodutos de plantas do ciclo fotossintético C_4 ; entretanto, são considerados méis puros pelo método oficial. Finalmente, as amostras com diferenças positivas são consideradas méis puros, ou seja, 0% de adulteração. As amostras que apresentaram teor de carbono C_4 abaixo de 7% são consideradas puras pela metodologia oficial (AOAC, 2000). No entanto, é possível que essas amostras tenham sido contaminadas com carbono de fonte C_4 em virtude do manejo indevido, ou seja, pela sua proximidade com a cultura de cana-de-açúcar ou alimentação das abelhas com produtos açucarados C_4 em período de baixa floração. Assim, a sensibilidade da metodologia isotópica do Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) permite detectar pequenas contaminações de subprodutos das plantas do Ciclo Fotossintético C_4 .

Valores semelhantes ao do presente trabalho foram obtidos por Arauco (2005), que ao analisar 31 amostras de méis do Estado de São Paulo, obteve valor médio para variabilidade isotópica do $\delta^{13}\text{C}$ de $-24,72 \text{ ‰}$ (mel) e de $-25,26 \text{ ‰}$ (proteína). Kruliski et al. (2010) também obteve valor médio para variabilidade isotópica do $\delta^{13}\text{C}$ de $-24,70$

$^0/_{00}$ (mel) e de $-25,33$ $^0/_{00}$ (proteína), ao analisar 19 amostras de méis do Estado de São Paulo.

Os méis considerados adulterados pela análise isotópica foram submetidos a quatro testes qualitativos que são utilizados para detectar adulteração em mel (glicose comercial, teste de Fiehe, reação de Lund e reação de Lugol). Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 4 e foram comparados com os da análise isotópica.

Tabela 4 - Resultados comparativos das análises dos méis por técnicas físico-químicas e análises isotópicas do carbono-13

Identificação da Amostra	Glicose Comercial	Lugol	Fiehe	Lund	Análises Isotópicas
nº 1 eucalipto	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	9,0% adulterado
nº 3 laranja	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	7,2% adulterado
nº 6 laranja	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	9,9% adulterado
nº 8 laranja	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	7,9% adulterado
nº 2 silvestre	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	13,8% adulterado

Todas as amostras adulteradas, segundo a análise isotópica, apresentaram resultado negativo para Glicose Comercial, Teste de Fiehe, Reação de Lund e Reação de Lugol. No estudo de Souza-Kruliski et al. (2010), os testes qualitativos (reação de Lugol, teste de Fiehe e reação de Lund) também falharam na identificação da adulteração.

Conclusões

Os resultados obtidos permitem concluir que 86,5% dos méis analisados são puros, indicando um bom desempenho dos apiários da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo.

As análises qualitativas não foram capazes de identificar as adulterações e a análise isotópica do carbono-13 mostrou ser uma ferramenta adequada para identificação e quantificação da adulteração do mel.

Referências Bibliográficas

ARAUCO, E.M.R. Avaliação da qualidade do mel e atividade da enzima invertase em *Apis mellifera* L. africanizadas. 2005. 109p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

ASSOCIATION OFFICIAL OF AGRICULTURAL CHEMISTS. Official method 998.12.C₄: plant sugar in honey. Arlington, 2000. 1017p.

MORAES R.M. de, TEIXEIRA E.W. Análise de mel (Manual técnico). Centro de Apicultura Tropical, IZ/SAA (Pindamonhangaba), 1998.

ROSSI, N.F., MARTINELLI, L.A., LACERDA, T.H.M., CAMARGO, P.B., VICTÓRIA, R.L. Análise da adulteração de méis por açúcares comerciais utilizando-se a composição isotópica de carbono. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.19, n.2, p.199-204, 1999.

SOUZA, C.R. Determinação da pureza dos méis comercializado nas regiões sul e sudeste do Brasil, através dos isótopos estáveis do carbono. 2007. 37p. Trabalho de Conclusão (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

SOUZA-KRULISKI, C.R., DUCATTI, C., VENTURINI FILHO, W.G., ORSI, R.O., SILVA, E.T. Estudo de adulteração em méis brasileiros através de razão isotópica do carbono. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.34, n.2, p. 434-439, 2010.

VIDAL R., FREGOSI E.V. de. Mel: Características, análises físico-químicas, adulterações e transformações. Instituto Tecnológico Científico “Roberto Rios” (Barretos), 1984.

WHITE JR. W. Internal standard stable carbon isotopic ratio method for determination of C₄ plant surges in honey: collaborative study, and evaluation of improved protein

preparation procedure. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, v.75, p. 543-8, 1992.

WHITE JR, W., DONER, L.W. Mass spectrometric detection of high-fructose corn syrup in honey by use the of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio: collaborative study. Journal of Association of Official Analytical Chemists, Arlington, v.61, p.746-750, 1978.

CAPÍTULO 5

Implicações

A região do Pólo Cuesta é um dos principais produtores de mel do Estado de São Paulo. No entanto, a abertura de novos mercados está estreitamente ligada ao cumprimento da legislação vigente quanto à qualidade e sanidade.

Os apicultores da região mostraram-se interessados em colaborar com a pesquisa, cedendo às amostras utilizadas neste trabalho. Foram coletadas e analisadas amostras de três diferentes floradas (eucalipto, laranja e silvestre), evidenciando a diversidade e o potencial da região.

A qualidade geral das amostras de mel da região do Pólo Cuesta do Estado de São Paulo pode ser considerada boa, apesar de grande parte das amostras estarem fora dos padrões exigidos pela legislação brasileira vigente quanto ao teor de umidade. Este problema pode ser atribuído a colheita prematura ou armazenamento inadequado.

A maioria dos apiários da região mostrou-se idôneo quanto à pureza dos méis analisados e a análise isotópica do carbono-13 mostrou ser uma ferramenta para monitorar pequenas contaminações de subprodutos das plantas do Ciclo Fotossintético C₄.

A higiene no beneficiamento é um ponto crítico e a adoção de “Boas Práticas de Fabricação” deve ser encarada como compromisso por todo o pessoal envolvido na extração e beneficiamento do mel, pois tais práticas resultam em inúmeros benefícios para o apicultor, dos quais se salientam a melhoria da qualidade higiênica dos produtos, o cumprimento da legislação vigente, a racionalização e otimização dos recursos técnicos e humanos, o aumento da confiança por parte dos clientes/ consumidores, reforçando obviamente a sua posição no mercado.

O desconhecimento ou negligência das boas práticas de higiene, por parte das pessoas envolvidas nas etapas de processamento do mel, levam à sua contaminação e, conseqüentemente, à ocorrência de alterações da qualidade (fermentações) ou a toxinfecções alimentares, que causam muitas vezes elevados custos sociais e econômicos.

Outras pesquisas são imprescindíveis para contribuir na caracterização e melhoria da qualidade do mel produzido no Pólo Cuesta e desta forma, direcionar atividades de capacitação, apoio e desenvolvimento aos produtores.