

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL CAMPUS DE LARANJEIRAS DO SUL ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DIONEI DA ROSA

COMPARAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE MÉIS DE ABELHAS JATAI E AFRICANIZADA PRODUZIDOS NO MUNICÍPIO DE RIO BONITO DO IGUAÇU-PR

LARANJEIRAS DO SUL

DIONEI DA ROSA

COMPARAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE MÉIS DE ABELHAS JATAI E AFRICANIZADA PRODUZIDOS NO MUNICÍPIO DE RIO BONITO DO IGUAÇU-PR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Engenharia de Alimentos da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Henrique Poliseli Scopel

Laranjeiras do Sul

DGI/DGCI - Divisão de Gestao de Conhecimento e Inovação

Rosa, Dionei da
COMPARAÇÃO FÍSICO - QUÍMICA E AVALIAÇÃO
MICROBIOLÓGICA DE MÉIS DE ABELHAS JATAI E
AFRICANIZADA PRODUZIDOS NO MUNICÍPIO DE RIO BONITO
DO IGUAÇU- PR/ Dionei da Rosa. -- 2014.
51f.:il.

Orientador: Fábio Henrique Poliseli Scopel. Trabalho de conclusão de curso (graduação) -Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Engenharia de alimentos , Laranjeiras do Sul, PR, 2014.

1. INTRODUÇÃO. 2. OBJETIVOS. 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA . 4. MATERIAIS E MÉTODOS . 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO. I. Scopel, Fábio Henrique Poliseli, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

DIONEI DA ROSA

COMPARAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE MÉIS DE ABELHAS JATAI E AFRICANIZADA PRODUZIDOS NO MUNICÍPIO DE RIO BONITO DO IGUAÇU-PR

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Laranjeiras do Sul-PR.

Orientador: Professor Dr. Fabio Henrique Poliseli Scopel

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: ___/__/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Fabio Henrique Poliseli Scopel

Prof. Larissa Canhadas Bertan

Lowne Canhadas Buton

Prof. Thiago Bergler Bitencourt

Dedico à minha família e aos meus pais Alfeu e Hilda, por todos os momentos de apoio e incentivo ao longo desta graduação, e minha namorada por toda a força e luz dada em momentos difíceis e discernimento ao compreender a distância e a saudade.

Agradecimentos

Agradeço por todas as oportunidades oferecidas pela Universidade Federal da Fronteira Sul;

Aos técnicos de laboratório da Universidade Federal da Fronteira Sul campus Laranjeiras do Sul, por todo o auxilio oferecido durante este trabalho;

Ao Professor Alexandre Manoel por todos os aprendizados humanos e científicos e por acreditar na luz do jovem ao desenvolver ciência;

Ao professor Fábio pela confiança, paciência e disponibilidade em ajudar;

Ao Amigo Evandro de Oliveira dos Santos pela imprescindível ajuda em todos os momentos e colaboração para o sucesso deste trabalho.

RESUMO

Este trabalho de conclusão de curso teve como objetivo a caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis de abelhas Tetragonisca angustula (jatai) e da abelha africanizada coletados no município de Rio Bonito do Iguaçu-PR e posterior comparação dos resultados obtidos. O mel devido sua grande quantidade de acucares se caracteriza como um alimento com alto valor nutricional. O mel se apresenta como um alimento complexo tanto no aspecto biológico e analítico, pois sua composição química varia em relação a sua origem floral e geográfica, das condições climáticas, espécie de abelha e manejo do apicultor. Desta forma, mel dos meliponíneos possuem características físico-químicas diferentes quanto às do mel produzido por abelhas Africanizadas e a atual Legislação brasileira referente a regulamentação do mel para fins comerciais atende apenas às características do mel de abelhas africanizadas, não contemplando as características do mel das abelhas nativas do país(meliponíneos). Sendo assim, se faz necessários esforços para a definição de padrões de qualidade oficiais e específicos regionalmente para méis de meliponíneos, para assim assegurar segurança e qualidade para o consumidor final e garantindo a valoração do produto. Realizou-se nos méis coletados, análises físico-químicas de umidade, cinzas, açucares redutores, sacarose aparente, acidez total, pH, hidroximetilfurfural e cor e analises microbiológicas de bolores e leveduras e de bactérias anaeróbicas. Todas as análises físicoquímicas diferiram estatisticamente ao nível de 5% de significância ara os dois tipos de mel. E a avaliação microbiológica resultou em dados preocupantes quanto à qualidade do mel produzido.

Palavras Chaves: Mel. Abelha. Jatai. Caracterização. Africanizada

RESUMÉN

Este trabajo de conclusión de curso tiene como objetivos la caracterización físico-química y la evaluación microbiológica de miel de la abeja Tetragonisca angustula (Jatai) y de la abeja africanizada de lo municipio Rio Bonito do Iguaçu-PR con posterior comparación de los resultados obtenidos. El miel debido a su gran cantidad de azúcares, se caracteriza como un alimento con alto aporte nutricional. El miel aparece como un alimento complejo, tanto en aspecto biológico y químicos. Eso es debido a su composición química que sufre variaciones en relación a su origen floral, geográfica, de las condiciones climáticas, de las especies de abejas y del manejo del apicultor. De esta manera el miel de abejas sin aguijón tienen diferentes características físico-químicas en comparación con el miel producid por las abejas africanizadas. Por otro laod, la legislación brasileña actual relativas a la regulación del miel con fines comerciales contempla solamente las características de miel de las abejas africanizadas, sin incluir las características de las abejas sin aguijón. Por lo tanto, es necesario definir las normas de calidad oficiales y regional específico para los mieles de abejas sin aguijón, asegurnado así la seguridad y la calidad para el consumidor además de la valoración del producto. Se realizó en la miel recogido análisis fisicoquímica de humedad, cenizas, azúcares reductores, sacarosa aparente, acidez total, pH, color y hidroximetilfurfural y análisis microbiológicos de mohos, levaduras y bacterias anaerobias. Todos los análisis físico-químicos difieren estadísticamente al 5% de significación ara ambos tipos de miel. Y la evaluación de los datos microbiológicos dio lugar a la preocupación por la calidad de la miel producida.

Palabras claves: Mel. Abeja. Jatai. Caracterización. Africanizadas.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1MEL	11
3.2 ABELHAS SEM FERRÃO (MELIPONINEOS)	12
3.3 ABELHAS AFRICANIZADAS (APPIS MELLIFERA)	13
3.4 MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO	14
3.4 MEL DE ABELHA AFRICANIZADAS	15
3.5 COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO MEL	16
3.3.1 Hidratos de carbono	16
3.3.2 Umidade	17
3.3.3 Minerais	18
3.3.4 Acidez e pH	18
3.3.5 Hidroximetilfurfural (HMF)	19
3.3.7 Substâncias insolúveis	20
3.3.8 Cor	20
3.6 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DO MEL	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 MATERIAL	25
4.1.1 Vidrarias	25
4.1.2 Reagentes	25
4.1.3 Equipamentos	26
4.2 METODOS	26
4.2.1 Coleta das Amostras	26
4.2.2 Análises físico-químicas	27
4.2.2.1 Determinação de umidade	27
4.2.2.2 Determinação de cinzas	27
4.2.2.3 Determinação de açúcares redutores	27
4.2. 2.4 Determinação de sacarose aparente	28
4.2.2.5 Determinação da acidez total	29

4.2.2.6 Determinação do pH	29
4.2.2.7 Determinação de hidroximetilfurfural	30
4.2.2.8 Determinação de sólidos insolúveis	30
4.2.2.9 Determinação da cor	31
4.2.3 Avaliação Microbiológica	32
4.2.3.1 Diluição	32
4.2.3.2 Contagem de bactérias anaeróbias	32
4.2.3.3 Contagem de Bolores e Leveduras	32
4.2.4 Análise Estatística	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
5.1 RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS	33
5.7 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	41
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	48

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a apicultura é de grande valor no Brasil, devido principalmente ao rápido retorno do capital investido. A apicultura iniciou na década de 50 quando imigrantes trouxeram abelhas africanas ao país, e estas cruzaram com diversas espécies que já habitavam o Brasil e assim formaram subespécies híbridas chamadas de abelhas africanizadas. Antes disto, abelhas meliponíneas (popularmente conhecidas como abelhas indígenas sem ferrão) eram responsáveis pela produção de mel e cera (NETO; NETO, 2005; APICULTURA, 2004 apud CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013).

Entende-se como apicultura o manejo da espécie de abelhas *Apis mellifera*, uma prática bastante comum e difundida no Brasil em que os produtos produzidos por estas possuem características bem determinadas. A meliponicultura é tida como manejo das abelhas sociais sem ferrão, sendo o mel o principal produto obtido desta atividade. A quantidade de mel produzida na meliponicultura é menor em comparação com a apicultura (NOGUEIRA-NETO, 1997; FUJII et al., 2009; VILLAS BOAS & MALASPINA, 2005 apud VERAS, 2012).

O Brasil se destaca por ser o 11° produtor mundial de mel e o 9° maior exportador. Os principais estados brasileiros exportadores são Ceará, Paraná, Piauí, Santa Catarina, São Paulo, Rio Grande do Norte e o Rio Grande do Sul. No ano de 2008, o setor alcançou o dobro do valor das exportações do ano anterior, com o montante de US\$ 43,57 milhões (SECEX/ALICE, 2008 apud FREITAS et al, 2010).

O mel se apresenta como um produto natural com consumo em ascensão, e importante fonte energética para a dieta humana, pois possui alto teor calórico, com vasta empregabilidade nas indústrias de alimentos, farmacêuticas e de cosméticos (PEREIRA, 2008).

Fundamentalmente o mel é uma mistura concentrada de açúcares. E sua composição química varia em função de fatores como: espécie botânica, tipo de solo, espécie da abelha, estado fisiológico da colônia, estado de maturação do mel e condições climáticas. O mel possui além dos açúcares em solução, ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas, acetilcolina, flavonoides, minerais e um grande número de compostos orgânicos que colaboram para sua cor, odor e sabor, sendo que estes até hoje não foram completamente conhecidos (BERA, 2004).

Os meliponíneos são popularmente conhecidos por abelhas sem ferrão, e são responsáveis por 38% da polinização das plantas floríferas nas regiões tropicais (SOUZA, 2008). Os méis produzidos pelos meliponíneos possuem alto valor agregado, e nos locais onde há produção destes méis também existem grande tradição de consumo, principalmente em relação às crenças terapêuticas e medicinais (ESCOBAR & XAVIER, 2013).

Considera-se a abelha *Tetragonisca angustula* ou popularmente abelha Jataí, como uma abelha sem ferrão ou meliponínea. Encontrada nos estados do Amazonas, Amapá, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Mato Grosso, Pará, Paraíba, Rio de Janeiro, Rondônia, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo. Em colônias desenvolvidas e fortes desta abelha, pode-se obter 0,5 a 1,5 L de mel/ano d (NOGUEIRA-NETO, 1997 apud ANACLETO et al, 2009).

O mel produzido pelas abelhas sem ferrão apresenta além de suas funções nutricionais também uma elevada atividade antibacteriana e antioxidante. Devido a estas características, o mel de abelhas sem ferrão é empregado tradicionalmente pela população contra varias enfermidades (DRUMOND, 2010 apud SOUZA, 2011).

Com estas aptidões, o mel de abelhas sem ferrão, é um produto com demanda de consumo crescente e obtendo preços mais elevados que o mel das abelhas *Apis mellifera* em diferentes regiões do Brasil (SOUZA *et* al, 2004 *apud* FREITAS, 2010). Mesmo com toda a importância dos méis de abelhas sem ferrão, representados pelo consumo milenar e crescente, ainda há poucos estudos referentes à caracterização físico-química destes méis (GONÇALVES et al, 2010).

O mel dos meliponíneos possuem características físico-químicas diferentes quando comparado com o mel produzido por abelhas *Apis mellifera* (GONÇALVES et al, 2010). A Legislação brasileira que trata sobre a regulamentação do mel para fins comerciais atende apenas às características do mel de *Apis melífera*, sem contemplar o mel das abelhas nativas do país (AZEREDO et al., 2000).

E a partir disto, se faz necessário esforços para a definição de padrões de qualidade oficiais e específicos para méis de meliponíneos, para assim assegurar segurança e qualidade para o consumidor final e garantindo a valorização do

produto. O trabalho de caracterização dos méis de meliponíneos de diversas regiões é importante pelo motivo de que as características físico-químicas destes variam em relação à espécie de abelha produtora, da composição da flora local e das condições ambientais locais (SOUZA, 2013). Regionalmente o trabalho de caracterização dos méis de abelha Jatai e de abelha africanizada é uma forma de responder a população quanto à qualidade dos méis produzidos na cidade do Rio Bonito do Iguaçu-PR.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis produzido por abelhas Jataí (tetragonisca angustula) e de abelhas Africanizadas coletados na cidade do Rio Bonito do Iguaçu-PR.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterização físico-química do mel de abelhas Jataí (tetragonisca angustula).
 - b) Caracterização físico-química do mel de abelhas Africanizadas.
- c) Avaliação da qualidade microbiológica dos méis de Jataí (tetragonisca angustula) e de abelhas Africanizadas

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1MEL

Para a legislação brasileira, conforme a Normativa n. 11, de 20 de outubro de 2000 o mel é um produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos da colmeia (BRASIL, 2000).

O mel pode ser classificado quanto a sua origem em mel floral e mel de melato. O mel floral é obtido dos néctares das flores, sendo subdividido em mel

unifloral ou monofloral (produzidos a partir de néctares de flores de uma mesma família, gênero ou espécie e assim possuindo características sensoriais, físico-químicas e microscópicas próprias) ou mel multifloral ou polifloral. 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).

Devido a sua riqueza em açucares, o mel é um alimento com alto valor energético. As abelhas utilizam parte desse mel para a própria alimentação e o restante é armazenado em quantidades consideráveis nos favos, para posterior abastecimento da colmeia em um eventual período de escassez.

O mel se apresenta como um alimento complexo tanto no aspecto biológico e analítico, pois sua composição química varia em relação a sua origem floral e geográfica, das condições climáticas, espécie de abelha e manejo do apicultor. Sendo assim ao se realizar análises físico-químicas de méis procedentes de colmeias próximas, pode-se obter resultados completamente diferentes.

Após a colheita o mel continua sofrendo modificações físicas, químicas e sensoriais, gerando a necessidade de produzí-lo dentro de níveis elevados de qualidade, controlando todas as etapas do seu processamento, afim de que se possa garantir um produto de qualidade (FREITAS et al, 2010).

3.2 ABELHAS SEM FERRÃO (MELIPONINEOS)

Na grande maioria, cerca de 95% das abelhas não apresentam hábito social, porém, muitas espécies de abelhas sociais também são nativas do Brasil. A população de abelhas sociais inclui algumas espécies de "mamangavas" e outras espécies de abelhas sem ferrão (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2005 apud MENDES et al, 2009).

Os meliponíneos ou popularmente conhecidas por abelhas indígenas sem ferrão, são encontradas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. No Brasil, mais de 300 espécies já foram catalogadas e estima-se que existam aproximadamente 800 espécies (KLEINERT & FERNANDES, 2007).

Desde muito tempo se detém conhecimento sobre os meliponíneos nas Américas. Os povos indígenas de diversos territórios se relacionavam com as abelhas indígenas sem ferrão, seja estudando-as, criando-as de forma rústica ou explorando-as de forma predatória (VILLAS-BÔAS, 2012).

O Brasil possui uma vasta quantidade de abelhas meliponíneas produtoras de mel, porém os gêneros de méis mais estudados no Brasil são provenientes de abelhas da espécie exótica *Apis melífera* (CARVALHO, 2005).

As abelhas meliponíneas que podem ser encontradas no Brasil são as espécies borá (*Tetragona clavicepes*), jataí (*Tetragonisca angustula*), jandaíra (*Melipona subnitida*), mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*), mirins (*Plebéia sp*) e urucu nordestina (*Melipona scutellaris*) (NOGUEIRA NETO, 1997 apud MENDES et al, 2009).

A abelha sem ferrão *Tetragonisca angustula* ou jataí tiveram sua origem nas regiões de clima tropical temperado e subtropical do planeta. A *Tetragonisca angustula* pertence à tribo trigonini, e exerce contribuições significativas como agente polinizador, mantendo o equilíbrio ecológico dos ecossistemas terrestres e a diversidade das flores. Também possui a característica de ocupar lugares variados e de fácil adaptação em áreas urbanizadas (CASTANHEIRA, 1995; NOGUEIRA-NETO, 1997 apud CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013).

3.3 ABELHAS AFRICANIZADAS (APPIS MELLIFERA)

Por volta do século XVII, houve a introdução das abelhas melíferas com ferrão originárias da Europa como as subespécies *Apis mellifera mellifera*, *Apis mellifera ligustica* e *Apis mellifera carnica*, estas são espécies sociais, porém sua capacidade de produção é pequena quando comparada a quantidades de floradas disponíveis no Brasil. (WIESE 1984 apud CARVALHO, 2010).

As abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*) foram introduzidas no Brasil no ano de 1956, mas depois de aproximadamente um ano, 26 enxames e suas respectivas rainhas, escaparam e cruzaram com as subespécies de abelhas melíferas proveniente da Europa e que foram introduzidas no século XIX. Devido a isso houve o surgimento de populações de abelhas polí-hibridas chamada de africanizadas, mas as características predominantes destas abelhas polí-hibridas são das abelhas africanas, tais como a grande capacidade de enxamear e a rusticidade (KERR, 1967 apud OLIVEIRA & CUNHA, 2005).

As abelhas africanizadas possuem alta capacidade de defesa, de adaptação a ambientes inóspitos e alta capacidade de reprodução. Sendo que estas características se assemelham mais com as abelhas africanas do que com as abelhas europeias e, como consequência, houve um rápido desenvolvimento

populacional destas abelhas (GONÇALVES, 1994 apud OLIVEIRA & CUNHA, 2005).

Estas abelhas podem sobreviver por vários meses enfrentando condições adversas como longos períodos de seca, onde pouco ou praticamente nenhum néctar é produzido. Outra característica das subespécies de *Apis mellifera* que vivem em clima tropical é sua capacidade de abandonar o local de nidificação em determinadas estações do ano, fundando novos ninhos em regiões mais adequadas para o desenvolvimento das colônias (CHAUD-NETTO, 1992 apud TOLEDO et al, 2006).

As abelhas africanizadas ocupam diversos tipos de abrigos, como: troncos ocos de árvores, telhados, hidrantes, forros de casas, cavidades em rochas, em pneus, em latas etc. (SOMMER et al, 2000 apud TOLEDO et al, 2006).

Devido à disseminação das abelhas africanizadas no Brasil, houve um aumentou da produção de mel, geleia real, cera, pólen e própolis e também aumento da polinização, pois as abelhas africanizadas utilizam o pólen coletado para sua nutrição (ZERBO et al, 2001 apud CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013).

As principais vantagens da abelha africana em comparação a abelha europeia é sua higiene, orientação, resistência a certas enfermidades e parasitas (MORETTO; GUERRA JR e BITTENCOURT, 2006 apud CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013).

3.4 MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO

Antes do desenvolvimento da produção de açúcar a base de cana de açúcar, o mel de meliponíneos era utilizado como adoçante natural e fonte de energia que era indispensável durante os tempos em que os indígenas faziam longas caminhadas para caçar ou à procura de alimentos. A influência indígena se detecta nos nomes atribuídos às diversas espécies de abelhas meliponíneos como Jataí, Uruçu, Tiúba, Mombuca, Irapuá, Tataíra, Jandaíra, Guarupu, Manduri e tantas outras. (VILLAS-BÔAS, 2012)

No continente americano, o mel de abelha sem ferrão esta presente desde períodos pré-colombianos. No Brasil, até o século XIX, o mel proveniente das abelhas sem ferrão foi utilizado na alimentação pelos índios e brancos, e sua cera era utilizada na confecção de velas pelos jesuítas (CARVALHO, 2005).

O mel de jatai apresenta características medicinais como ação de aumento na resistência do organismo, ação febrífuga, ação sedativa, ação antisséptico, digestivo, laxativo e diurético (ESCOBAR & XAVIER, 2013).

A quantidade de mel produzida pelos meliponíneos é menor se comparado com outras espécies, porém o produto produzido se apresenta de forma diferenciada em comparação principalmente ao mel produzido pelo gênero *Apis melífera*. As principais diferenças se encontram na doçura inigualável, sabor diferenciado e mais aromático. (CARVALHO *et al*, 2005)

A legislação brasileira que se refere ao "produto mel" é baseada em padrões norte-americanos para classificação do mel proveniente da abelha de gênero *Apis melífera* (BRASIL, 2000), e estas não atendem integralmente às características do mel produzido pelas abelhas sem ferrão (CARVALHO, 2005).

3.4 MEL DE ABELHA AFRICANIZADAS

Segundo Pereira (2008) o mel de abelhas africanizadas contém cerca de 200 substâncias. Dentre estas, o principal constituinte são os glicídios, representados pelos monossacarídeos glicose e frutose. Também apresentam quantidades de proteínas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgânicos, substâncias minerais, pólen e outras substâncias como sacarose, maltose, malesitose e outros oligossacarídeos (incluindo dextrinas). Outros componentes com pequenas concentrações que podem ser encontrados são fungos, algas, leveduras e outras partículas sólidas provenientes do método de obtenção do mel (CODEX STANDARD FOR HONEY, 2001 apud MENDES et al, 2009).

Desde a antiguidade o mel é valorizado devido principalmente à sua doçura e valor nutritivo (DOWNEY et al., 2005; PISANI et al., 2008 apud GOMES, 2009). Relatos citam que o mel é eficaz frente a doenças gastrointestinais, na cicatrização de feridas e queimaduras, como agente anti-microbiano e por fornecer proteção gástrica contra lesões agudas e crónicas gástricas (AL-MAMARY et al., 2002 apud GOMES, 2009).

Nos últimos anos, ocasionado pela melhora dos padrões de vida da sociedade e a busca crescente por produtos naturais com implicações benéficas para a saúde, verifica-se um aumento do consumo de mel de abelhas africanizadas, sobretudo nos países industrializados.

3.5 COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO MEL

De acordo com Silva et al (2004) apud Mendes et al (2009) os fatores que interferem nas características sensoriais e composição do mel são a fonte floral usada na coleta do néctar, o clima, as condições ambientais, estágio de maturação, espécie de abelha, bem como manuseio e processamento. Assim os méis diferem consideravelmente em função da região.

3.3.1 Hidratos de carbono

Os hidratos de carbono são os constituintes majoritários do mel, e são essencialmente a frutose, a glicose e a sacarose, ainda existem outros hidratos de carbono que estão presentes em quantidades bem menores, esses são dissacarídeos, como maltose e isomaltose, trissacarídeos e tetrassacarídeos (PEREIRA, 2008).

Os açúcares redutores tem capacidade de reduzir íons de cobre em solução alcalina (CARVALHO et al, 2005). Essa classe de açúcares é representada pela glicose e frutose. Estas se encontram no mel de abelha africanizada em proporções quase iguais (KERR, 1996 apud MENDES et al, 2009) e são importantes para o estabelecimento de uma série de características do mel (MOREIRA & MARIA, 2001 apud MENDES et al, 2009).

O monossacarídeo frutose normalmente apresenta-se em maior quantidade no mel e é um dos principais responsáveis pela doçura e pela alta higroscopicidade do mel de jatai, já a glicose apresenta pouca solubilidade e determina à tendência a cristalização (CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013; LOPES et al, 2005 apud UMADA & SEKINE, 2010).

A tendência de cristalização do mel é a relação frutose/glicose, onde os méis com uma alta relação permanecem líquidos durante maiores períodos. Essa proporção depende basicamente da fonte de néctar (PEREIRA, 2008).

A concentração de sacarose constitui um bom critério para diferenciar os méis monoflorais dos poliflorais (CARILLO MAGANA, 1998 apud MENDES et al, 2009). Um conteúdo elevado desse dissacarídeo pode ser um indício de colheita prematura do mel de abelha africanizada, como do mel da abelha jatai. Pois neste caso a sacarose não foi totalmente convertida em glicose e frutose pela ação da enzima invertase, que é secretada pelas abelhas (CHIAPETTI &

BRAGHINI, 2013). De acordo com Sodré *et al* (2007) *apud* Pereira (2008), pode ainda indicar uma adulteração pela adição de açúcar comercial ao produto.

3.3.2 Umidade

Com relação à composição do mel, a água apresenta-se como o segundo maior componente. O conteúdo de água no mel segundo Chiapetti & Braghini (2013) depende do clima, origem floral e colheita antes da completa desidratação, podendo ser alterado também após sua retirada da colmeia, devido às condições de armazenamento, manejo e região, pois é um alimento muito higroscópico que absorve água com facilidade. Assim o teor de umidade do mel irá influenciar na sua viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor, conservação e palatabilidade (MARCHINI et al, 2004 apud MENDES et al, 2009).

De acordo com Pereira (2008), conteúdos elevados de água acarretam em dificuldades na preservação e armazenamento do produto. Este fator é preponderante para a estabilidade do mel prevenindo a sua fermentação e granulação durante o armazenamento. Méis com elevados teores de umidade são fermentados com maior facilidade pelos microrganismos osmofílicos (tolerantes ao açúcar) presentes nos corpos das abelhas, no néctar, no solo, nas áreas de extração e armazenamento. (MARCHINI, SODRÉ e MORETI, 2004 apud MENDES et al, 2009).

Os méis de meliponíneos possuem um teor de umidade maior em relação ao produzido por *Apis melífera*, possuindo assim viscosidade mais baixa e condições de conservação diferentes daquelas dos méis cuja umidade é menor. Segundo Silva (2000) *apud* Mendes *et al* (2009), uma possível explicação para essa maior quantidade de água presente no mel de meliponíneos é que em plantas em que a abelha Apis se faz presente na coleta de néctar, os meliponíneos não foram encontradas. Outro fator a ser considerado é o manejo utilizado para opercular o mel, onde a abelha africanizada (Apis) de uma maneira geral, só opercula o mel quando este se encontra com umidade de 17% a 18%, o que pode ser diferenciado no caso de abelha jatai, no qual opercula os potes de mel com umidade em torno de 24% (EVANGELISTA-RODRIGUES *et al*, 2005).

3.3.3 Minerais

Através da determinação de cinzas pode-se expressar a quantidade de minerais do mel. Essa quantidade de minerais normalmente é pequena e de acordo com Rodríguez et al (2004) apud Pereira (2008) os valores obtidos para este parâmetro dependeram do material recolhido pelas abelhas durante a coleta de néctar e melada. Além disso, segundo Evangelista-Rodrigues et al (2005) a determinação de cinzas possibilita verificar se ocorreram algumas irregularidades no processamento do mel, como a falta de higiene e a não decantação e/ou filtração no final do processo de retirada do mel. Anklam (1998) apud Pereira (2008) afirma ainda que o conteúdo de minerais do mel pode fornecer indicações acerca da poluição ambiental ou da origem geográfica do mel.

De acordo Olaitan *et al* (2007) *apud* Pereira (2008) o potássio é o mais abundante dos minerais presentes no mel, podendo ser encontrado ainda minerais como cálcio, cobre, ferro, manganês e fósforo, que são essenciais para o organismo e sua inclusão na dieta diária ajudaria a eliminar uma possível deficiência dos mesmos (WHITE JUNIOR, 1979 *apud* CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013). Méis de cor mais clara possuem normalmente um teor de cinzas inferior em comparação aqueles de cor mais escura (FINOLA *et al*, 2007 *apud* PEREIRA, 2008).

3.3.4 Acidez e pH

A acidez no mel é proveniente da variação dos ácidos orgânicos, onde a enzima glicose-oxidase ao agir sobre a glicose origina o acido glicônico (CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013). A ação desta enzima se mantém presente no mel mesmo após o processamento e armazenamento (NOGUEIRA-NETO, 1997 apud MENDES et al, 2009), sendo um indicativo das condições de armazenamento e fermentação do produto.

De acordo com Pereira (2008), além do ácido glicônico, ainda foram identificados no mel os ácidos pirúvico, málico, cítrico, succínico e fumárico. Esses contribuem consideravelmente para o sabor característico do mel, tendo um pronunciado efeito no flavor. A presença desses ácidos ainda é um dos responsáveis pela estabilidade do produto frente à ação de microrganismos (MENDES *et al*, 2009).

Segundo Pereira (2008) a flora e a época de colheita do mel são fatores que influenciam na acidez do mel, sendo que méis multiflorais possuem valores de acidez inferior. Finola *et al* (2007) *apud* Pereira (2008) verificaram que a acidez livre é inversamente proporcional ao teor de cinzas no mel, isso se deve ao fato de que um teor de minerais mais elevado acarreta em uma maior fração de ácidos salinizados.

No mel de Jatai se observa maior atividade de água, e esta característica faz com que a atividade da enzima glicose-oxidase seja mais intensa, havendo maior produção de ácido glicônico, ocasionando pH relativamente baixo e acidez livre alta em comparação com o mel da abelha africanizada (NOGUEIRA NETO, 1997 apud MENDES et al,2009). O pH do mel não está diretamente relacionado com a acidez livre devido à ação tampão dos ácidos e minerais presentes no mel (RODRÍGUEZ et al, 2004 apud PEREIRA, 2008).

O pH do mel é influenciado pelo pH do néctar, pelo solo e da associação de outros vegetais na composição do mel (CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013). Este parâmetro pode ser influenciado por substâncias mandibulares da abelha acrescidas ao néctar quando do transporte até a colmeia (EVANGELISTA-RODRIGUES *et al*, 2005). O pH do mel é importante por influenciar na velocidade de formação do hidroximetilfurfural (SOUZA & BAZLEN, 1998 *apud* MENDES *et al*, 2009).

3.3.5 Hidroximetilfurfural (HMF)

O Hidroximetilfurfural (HMF) é utilizado como indicador de qualidade, uma vez que tem origem na degradação de enzimas presentes nos méis e apenas uma pequena quantidade de enzima é encontrada em méis maduros (MENDES *et al*, 2009).

Deste modo, em razão da degradação das enzimas, por meio de armazenamento prolongado em temperaturas elevadas e/ou superaquecimento, ou ainda adulterações provocadas por adição de açúcar invertido, há um aumento no teor de HMF caracterizando más condições de armazenamento ou adulteração (CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013).

O HMF pode ser formado pela desidratação da hexose em meio ácido ou pelas reações de Maillard. Mel de boa qualidade deve possuir um baixo teor de HMF(TOSI et al., 2008 apud GOMES, 2009). Ainda o conteúdo de HMF no mel

pode ser influenciado pela acidez, pH, conteúdo de água e minerais (WHITE JÚNIOR, 1979 apud MENDES et al, 2009).

O HMF é um parâmetro muito importante para evidenciar a perda de qualidade do mel, a formação deste conduz ao escurecimento e a perda do seu aroma e sabor (SANCHO, 1990 *apud* FERREIRA, 2008).

Em méis de meliponíneos, valores elevados de HMF podem estar associados às técnicas inadequadas de manejo e/ou condições climáticas adversas da região (REGO et al, 2002 apud MENDES et al, 2009).

3.3.7 Substâncias insolúveis

A determinação de sólidos insolúveis permite detectar impurezas presentes no mel, visto que correspondem aos resíduos de cera, patas e asas das abelhas, outros elementos inerentes do mel ou do processamento submetido (SILVA *et al*, 2006 *apud* CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013). Assim esse parâmetro é uma ferramenta importante para o controle higiênico do produto.

Alguns dos elementos que são acusados pela determinação de sólidos insolúveis são provenientes do material utilizado pelas abelhas para produção do mel e outros resultam da ação do apicultor no beneficiamento do produto. De acordo com Ferreira (2008) a presença de grãos de amido e restos de vegetais em quantidades consideráveis no mel é devido ao uso de substitutos na alimentação das abelhas, tais como cozimento de plantas ou açúcares misturados com farinhas. A presença de quitina, tecidos de abelhas adultas, larvas e ainda fibras têxteis é devida á utilização de meios primitivos na extração do mel (FERREIRA, 2008).

3.3.8 Cor

A cor do mel, além do flavor e aroma, é uma das características que permite identificar a sua origem floral (PEREIRA, 2008). A cor é resultado de distintos graus de absorção de luz a diferentes comprimentos de onda por parte dos constituintes do produto, apresentando grande variabilidade, desde o amarelo muito pálido (quase branco) até aos negros (FERREIRA, 2008).

Os pigmentos responsáveis pela cor do mel são os carotenos ou as xantofilas e os polifenóis do tipo flavonoide (GONNET & VACHE, 1985 apud FERREIRA, 2008). Fellenberg e Rusiecki (1938) apud Ferreira (2008)

verificaram que os méis claros apresentam um maior conteúdo em corantes lipossolúveis, e os méis mais escuros, uma maior quantidade de corantes hidrosssolúveis.

A cor pode variar com a idade e as condições de processamento e armazenamento do mel, sendo que o escurecimento do produto pode vir a ser devido à reação de Maillard, a instabilidade da frutose em soluções ácidas e a reações de polienóis (MENDES et al, 2009). Porém a transparência e a claridade são fatores que dependem apenas da quantidade de partículas suspensas, como o pólen (OLAITAN et al, 2007 apud PEREIRA, 2008). A cristalização é outro fator que altera a cor, aumentando a luminosidade e diminuindo a pureza cromática (FERREIRA, 2008).

Os méis mais escuros apresentam uma composição característica, com um conteúdo superior de substancias minerais (manganês, potássio, sódio e ferro) (COUTO & COUTO, 2002 apud MENDES et al, 2009), uma acidez mais elevada, aminoácidos (sobretudo triosina e triptofano) e ácidos fenólicos em maior quantidade em relação aos méis mais claros (ANDRADE et al, 1994 apud FERREIRA, 2008). Como dito anteriormente a formação de HMF conduz ao escurecimento do mel.

3.6 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DO MEL

Considera-se o mel como um produto natural, saudável e limpo, detentor de propriedades medicinais e de atividade antimicrobiana. A atividade antimicrobiana esta relacionada com fatores físicos como osmolaridade, e químicos como concentração de peróxido de hidrogênio, pH, compostos fenólicos, ácidos orgânicos e enzima glicose-oxidase. Estes compostos atuam como uma barreira ao desenvolvimento dos microrganismos (BOGDANOV, 2006; JEFFREY; ECHAZARRETA, 1996; MOLAN, 1999; WESTON,2000; DE MARIA & MOREIRA, 2003 apud SOUZA, 2008).

Os compostos fenólicos são conhecidos pela capacidade de inibir o crescimento de várias bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O mecanismo de inibição é por meio da interação com áreas hidrofóbicas específicas das células, modificando a integridade da membrana e diminuindo a competência de agir como barreira seletiva. Outro ponto importante destes compostos é sua ação

antimicrobiana causada pela inativação de enzimas celulares. (TAORMINA, 2001; CARPES, 2008; ROSSEL, 2003 apud PERALTA, 2010)

Em estudos laboratoriais, detectou-se a capacidade do mel em inibir uma grande quantidade de patógenos, incluindo patógenos resistentes a antibióticos, como *Staphylococcus aureus e pseudomonas* (DUNFORD et al., 2000; ESTRADA et al., 2005; GONÇALVES; ALVES FILHO; MENEZES, 2005; ORTIZ-VAZQUEZ; CABALLERO; CUEVAS-GLORY, 2007 apud SOUZA, 2008).

Mesmo com as características antimicrobianas do mel, ainda é possível o desenvolvimento de microrganismos. A contaminação do mel pode ser proveniente de fontes primárias ou secundárias.

A fonte primária de contaminação microbiológica é relacionada com o pólen, o trato digestivo das abelhas, a poeira e as flores. As fontes secundárias de contaminação são provenientes da manipulação e os descuidados higiênicos durante a extração do mel (SANTOS, 2007 apud GOIS et al, 2013).

Os microrganismos de importância no mel são fundamentalmente leveduras, fungos filamentosos e bactérias formadoras de esporos (GOMES, 2006 apud SOUZA, 2011). Os fungos presentes no mel estão relacionados com a flora intestinal das abelhas, à colmeia e ao pasto apícola (SANTOS, 2007 apud GOIS et al, 2013).

Bolores e leveduras possuem a capacidade de se desenvolver em condições desfavoráveis para a maioria dos microrganismos. Podendo crescer em substratos com concentrações de açúcares intoleráveis para as bactérias, e também tolerando altas concentrações de ácidos e variações de pH entre 2 e 9 (LACAZ-RUIZ, 2000 apud SOUZA, 2008).

O desenvolvimento de fungos filamentosos no mel facilita a deterioração devido à ação de diversas enzimas. Diversos fungos filamentosos são capazes de produzir compostos tóxicos ao se multiplicarem. Estes metabólitos são micotoxinas que causam alterações biológicas prejudiciais tanto no homem como em animais quando ingeridos (FRANCO e LANDGRAF, 2005 apud WENZEL, 2012). Segundo Silva et al (2008), no mel pode-se encontrar fungos do gênero *Penicillium e Mucor* e alguns gêneros de leveduras osmofílicas.

Os processos de deterioração do mel estão principalmente relacionados com o crescimento de leveduras. As leveduras são responsáveis pela produção de enzimas e toxinas, pela conversão metabólica do alimento. Mel com alta carga de

leveduras não é palatável e não autorizado a ser vendido. (ALMEIDA, 2010 apud WENZEL, 2012).

As bactérias presentes no mel variam em relação ao tipo de mel, estado de maturação, técnicas de colheita, armazenamento e técnica de análise utilizada. Além de importância da correta manipulação e prática higiênica por parte do manipulador a qualidade microbiológica do mel também depende dos hábitos higiênicos das abelhas produtoras (NOGUEIRA-NETO, 1997; SNOWDON, 1996 apud SOUZA, 2011).

O grupo de coliformes a 35°C (coliformes totais) é composto por bactérias gram-negativas não esporuladas, fermentadoras de lactose, produtoras de ácido e gás em faixa de temperatura que varia entre 32° e 37°C. Pode-se considerar os coliformes a 45°C (coliformes fecais) como um subgrupo dos coliformes totais. Estes habitam naturalmente o trato intestinal dos animais homeotérmicos, e que são indicativos do ponto de vista sanitário, da probabilidade que o alimento tenha entrado em contato com material de origem fecal (NOVAK; ALMEIDA, 2002, apud SOUZA, 2008).

O grupo coliforme é constituído por bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Klebisiella*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Erwinia*, e *Enterobacter*. Ao encontrar este grupo em alimentos se tem o indicativo de condições higiênicas inapropriadas, com possível contaminação durante as etapas de produção, beneficiamento e armazenamento. A *Escherichia coli* é o principal indicador de contaminação fecal quando comparada a outros gêneros, portanto sua presença em uma população de coliformes é a mais pesquisada (JAY, 2005).

Os principais microrganismos patogénicos encontrados no mel são os Bacillus larvae, Bacillus alvei, Aspergillus flavus, Ascosphaera apis, Ascosphaera alvei , Bacillus cereus, Clostridium perfringens e Clostridium botulinum (SNOWDON e CLIVER, 1996 apud GOMES, 2009).

Os gêneros *Bacillus* e *Clostridium* são importantes microrganismos causadores de enfermidades e se apresentam como anaeróbios, desta forma a avaliação dos méis em regime de anaerobiose é importante indicador da presença de bactérias anaeróbias.

Considerando o gênero *Clostridium*, *Clostridium botulinum* é o de maior importância, pois este é causador de uma severa intoxicação alimentar e pode se

desenvolver no mel. Crianças com menos de um ano de idade são as mais susceptíveis ao desencadeamento desta intoxicação, pois sua imunidade não está completamente desenvolvida e assim permitindo o desenvolvimento de esporos responsáveis pela produção de neurotoxina botulínica, desta forma não se recomenda oferecer mel a crianças com idade menor que 1 ano (SOLOMON & LILLY, 2001; ARNON et al. 1981 apud SOUZA, 2011).

Ragazini(2008), avaliando a presença de esporos *Clostridium Botulinum* em mel, encontrou duas amostras positivas em 100. Em outra investigação, encontrou-se resultados que cerca de 7% do mel brasileiro de *Apis mellifera* está contaminado com *Clostridium botulinum* (SCHOCKEN-ITURRINO et al. 1999; RALL et al., 2003 apud PEREIRA, 2007)

É importante salientar que os principais microrganismos patogênicos para os animais, apresentam pH ótimo de crescimento na faixa de 7,2 a 7,4, porém certas bactérias causadoras de enfermidades podem se desenvolver na faixa de pH de 4,0 a 4,5 e portanto o mel possibilita o crescimento destas bactérias patogênicas. Como dito, o mel apresenta barreiras naturais de crescimento de microrganismos, mas alguns bolores e leveduras podem se adaptar a estas condições adversas e se desenvolver. O crescimento destes microrganismos, propiciado pelo conteúdo mineral, atividade enzimática e textura, acarretam a mudanças de valores de pH e acidez livre do mel (LÍRIO, 2010 apud GOIS et al, 2013).

A importância da caracterização microbiológica de um produto é devido ao fornecimento de dados para avaliar condições de processamento, armazenamento e distribuição, vida útil e quanto aos riscos à saúde da população. Mesmo com toda a importância de se avaliar a qualidade microbiológica do mel, a atual legislação Brasileira não contempla as análises microbiológicas em mel, apenas registram que se devem seguir as práticas de higiene na manipulação do produto. Faz-se necessário reavaliar estes conceitos, pois o mel é um alimento de consumo humano e suscetível à contaminação microbiológica (TCHOUMBOUE et al., 2007; FRANCO, 2008; BRASIL, 2000; FRANCO, 2008 apud SOUZA et al, 2012)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Vidrarias

- a) Proveta;
- b) Erlenmeyer;
- c) Bureta;
- d) Suporte Universal;
- e) Garra;
- f) Pipeta volumétrica e graduada;
- g) Pera de Sucção;
- h) Béquer;
- i) Pisseta;
- j) Água destilada;
- k) Pinça;
- 1) Pesa filtro;
- m) Balão volumétrico;
- n) Cadinho de porcelana;
- o) Papel filtro;
- p) Tubos de ensaio;
- q) Cubeta de quartzo;
- r) Filtro;
- s) Bastão de vidro;
- t) Funil de vidro;
- u) Pipeta semi-automática;
- v) Alça de drigalski.

4.1.2 Reagentes

- a) Solução de Fehling A;
- b) Solução de Fehling B;
- c) Solução de Azul de metileno;
- d) Ácido clorídrico;
- e) Solução de fenolftaleína;

- f) Solução de NaOH 0,1 N ou 0,01 N;
- g) Água destilada;
- h) Solução de Carrez I;
- i) Solução de Carrez II;
- j) Água Peptonada
- k) Meio Rosa de Bengala
- 1) Meio PCA Plate Count Ágar

4.1.3 Equipamentos

- a) Colorímetro (Konica Minolta®, CR-400);
- b) Chapa Elétrica;
- c) Estufa (SOLAB, SL-102/150);
- d) Mufla (ZEZIMAQ, FHMP);
- e) Refratômetro (BIOBRIX, 2WAJ);
- f) Dessecador;
- g) Balança Semi-Analítica (MARTE, UX420H)
- h) pHmetro (HANNA, HI 2221);
- i) Espectrofotômetro (THERMO SCIENTIFIC, EVOLUTION 201);

4.2 METODOS

4.2.1 Coleta das Amostras

Os méis foram coletados em Rio Bonito do Iguaçu (PR) utilizando-se de técnicas descritas por Villas-Bôas (2012). Coletou-se o mel da abelha jatai diretamente dos potes pelo método de sucção, esta técnica viabiliza menor contato do produto com o ambiente externo e diminui a possibilidade de contaminação pelo manipulador. A sucção do mel foi realizada empregando uma seringa descartável com prolongamento no bico. O mel sugado foi depositado em um frasco de vidro esterilizado e mantido sob refrigeração para posterior realização das análises físico-químicas e microbiológicas.

Coletou-se o mel de abelhas africanizadas utilizando-se de equipamentos adequados, como macação, botas, luvas e fumigador. Primeiramente retirou-se os favos das melgueiras e transferiu-se para baldes plásticos higienizados. Transferiu-se esses baldes para uma unidade domiciliar e como etapa posterior

utilizou-se de uma membrana filtrante de tecido de algodão para separar a cera do mel. Então acondicionou-se o mel em potes de vidro higienizados e acondicionados à temperatura ambiente, até serem transferidos para o laboratório para realização das análises físico-químicas e microbiológicas.

4.2.2 Análises físico-químicas

4.2.2.1 Determinação de umidade

Determinou-se a umidade dos méis pelo método refratométrico da AOAC (2000), sem qualquer pré-tratamento das amostras de mel, mediu-se a refração em um refratômetro de Abbé, anotando o valor de temperatura e do refratômetro. Seguindo da correção para a temperatura e comparando os valores encontrados com a tabela de chataway (anexo A).

4.2.2.2 Determinação de cinzas

Determinou-se por meio da incineração das amostras em mufla a 600°C até peso constante (IAL, 2008). Pesou-se 5 g de amostra em cadinhos de porcelana, previamente aquecidos em mufla a 550°C e resfriou-se em dessecador até temperatura ambiente e pesado. Calcinou-se o mel em temperatura baixa e então a incineração foi iniciada no forno mufla a 600°C, por quatro horas. Após deixou-se resfriar em dessecador até temperatura ambiente e em seguida pesou-se o conjunto cadinho mais amostra incinerada. A determinação do teor de cinzas pode ser expressa pela seguinte equação:

$$Cinzas~(\%) = \frac{100 \times N}{P}$$

Onde:

N = massa em gramas de cinzas

P = massa em gramas da amostra

4.2.2.3 Determinação de açúcares redutores

Pesou-se aproximadamente 4 g da amostra de mel em um béquer de 200 mL, após adicionou-se neste um volume de 100 mL de água, para dissolver a amostra. Filtrou-se em papel de filtro seco e transferiu-se o filtrado para a bureta. Em seguida adicionou-se em um erlenmeyer de 250 mL, 5 mL da solução de

Fehling A e 5 mL da solução de Fehling B, e colocando em seguida 50 mL de água. Aqueceu-se até ebulição.

Titulou-se a solução de mel contida na bureta, gota-a-gota, sobre a solução do erlenmeyer em ebulição, em constante agitação, até que esta passasse de azul à marrom tijolo (no fundo do erlenmeyer se observou um precipitado de Cu2O) (CAC, 1990). Para obter a quantidade de açúcares redutores em 100 g de amostra, utilizou-se da seguinte equação:

Glicídios redutores em glicose (%) =
$$\left[\frac{100 * A * f}{P * V}\right]$$

Onde:

A = número de mL da solução de P g da amostra.

f = fator de correção.

P = massa da amostra em g.

V = mL da solução da amostra gasto na titulação.

4.2. 2.4 Determinação de sacarose aparente

Realizou-se a inversão da sacarose por hidrólise ácida, utilizou-se 25 mL da amostra de mel preparado na determinação de açucares redutores, adicionou-se 0,5 mL de HCl concentrado e deixou-se em banho-maria (±70 °C) durante 15 min. Deixou-se resfriar à temperatura ambiente e em seguida neutralizou-se a solução de mel com solução de hidróxido de sódio a 40%, e verificado por meio da adição de gotas do indicador de fenolftaleína. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com água destilada. A solução formada foi transferida para uma bureta.

Em um erlenmeyer de 100 mL, adicionou-se 5 mL da solução de Fehling A e 5 mL da solução de Fehling B, e acrescentando-se em seguida 50 mL de água. O conjunto foi submetido à ebulição. Titulou-se a solução de mel contida na bureta sobre a solução em ebulição e agitação, até que esta solução passasse de azul a marrom tijolo (formando no fundo do erlenmeyer um resíduo de Cu₂O).(CAC, 1990). Assim obtêm-se os açúcares totais através da seguinte equação:

$$A\varsigma\'ucares\ totais\ (\%) = \left[\frac{100*A*f}{P*V}\right]$$

Onde:

A = número de mL da solução de P g da amostra

f = fator de correção

P = massa da amostra em g

V = mL da solução da amostra gasto na titulação.

E pela diferença tem-se a porcentagem de sacarose:

Sacarose aparente (%) = Açúcares totais (%) - Açúcares redutores (%)

4.2.2.5 Determinação da acidez total

A acidez do mel é baseado na determinação da acidez livre, lactônica e total, com o auxílio do pHmetro. Determinou-se a acidez livre por meio de titulação com hidróxido de sódio (0,05 N) até o ponto de equivalência (pH 8,5). Encontrou-se a acidez lactônica com a adição de 10 mL de hidróxido de sódio, e após titulou-se com ácido clorídrico. A acidez total é o somatório entre a acidez livre e a lactônica.

Pesou-se 10 g de mel (béquer) e acrescentou-se 75 mL de água livre de CO2, e aferiu-se o pH desta solução. Titulou-se sob agitação, hidróxido de sódio (0,05M) na solução de mel com o eletrodo mergulhado na solução, a titulação com hidróxido de sódio termina quando o pH alcançar o pH 8,5 (Acidez Livre). Rapidamente acrescentou-se 10 mL de NaOH à solução (mel + água). E titulou-se com ácido clorídrico (HCL) até alcançar o pH 8,3 (Acidez Lactônica). Para efeitos de cálculos e correções faz-se necessário preparar o branco, que consistiu-se em aferir o pH da água destilada e titular com NaOH até o pH 8,5 (UNIVERSIDADE, 2008).

Acidez livre = $(NaOH \ gasto \ corrigido - branco) \ x \ 50/peso \ da \ amostra.$ $Acidez \ lactônica = (10 - vol. HCl \ gasto \ corrigido) \ x \ 50/peso \ da \ amostra.$ $Acidez \ total = Acidez \ livre + Acidez \ lactônica \ (meq/kg)$

4.2.2.6 Determinação do pH

Determinou-se o pH de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Foi diluídos 5g de amostra em 75 mL de água e realizar a leitura em pHmetro digital.

4.2.2.7 Determinação de hidroximetilfurfural

Realizou-se a determinação do conteúdo de hidroximetilfurfural (HMF) por meio de espectrofotômetro a 284 e 336nm, (IAL, 2008). Para isto pesou-se, aproximadamente 5 g de mel em um béquer de 50 mL e adicionou-se 25 mL de água. Após a diluição transferiu-se a solução de mel para balão volumétrico de 50 mL e adicionou-se 0,5 mL de solução de Carrez I e 0,5 mL de solução de Carrez II, e por fim completou-se o volume do balão com água. Filtrou-se o volume do balão em papel filtro e descartando os primeiros 10 mL do filtrado. Pipetou-se 5 mL do filtrado em dois tubos de ensaio. Adicionou-se 5 mL de água em um dos tubos (amostra) e 5 mL de solução de bissulfito de sódio 0,2% no outro (referência). Agitou-se bem e determinou-se a absorbância da amostra a 284 e 336 nm em cubeta de 1 cm. Para o cálculo da quantidade de HMF, utiliza-se a equação:

$$\frac{mgHMF}{100 \, q \, de \, mel} = \frac{(A_{284} - A_{336}) \times 14,97 \times 5}{P}$$

Onde:

A₂₈₄ = leitura da absorbância a 284 nm

A₃₃₆ = leitura da absorbância a 336 nm

P = massa da amostra em g

5 = massa teórica da amostra

Fator: 14,97 = (126/16,830) (1000/10) (100/5)

Onde:

126= peso molecular do HMF

16,830= absortividade molecular do HMF à 284nm

1000 = mg/g

10= centilitros/L

100= porcentagem de HMF

5= peso teórico da amostra

4.2.2.8 Determinação de sólidos insolúveis

Realizou-se a determinação de acordo com método do CAC (1990). Secouse por 1h o papel de filtro em estufa a 135° C. Resfriou-se e aferiu-se a massa do papel filtro. Pesou-se 10g de amostra e diluiu-se em 50 mL de água fervida. Filtrou-se o mel diluído no papel de filtro previamente pesado e levou-se para a estufa a 105°C até peso constante.

Sólidos insolúveis (%) =
$$\frac{100 * N}{P}$$

Onde:

N = massa em gramas do resíduo;

P = massa em gramas da amostra.

4.2.2.9 Determinação da cor

Avaliou-se as cores do mel por dois métodos distintos, um empregando o colorímetro e outro empregando o espectrofotômetro e glicerina PA como branco.

4.2.2.9.1 Método do colorímetro

Utilizou-se o colorímetro sobre a amostra. A leitura da cor foi realizada para se obter os valores de L* (luminosidade), a* (componente vermelho - verde) e b* (componente amarelo - azul). (BERTONCELJ et al., 2007 apud SOUZA, 2013).

Analisou-se 3 parâmetros de cor: L*, a* e b*. Sendo que o valor de a* caracteriza coloração na região do vermelho (+a*) ao verde (-a*), o valor b* indica coloração no intervalo do amarelo (+b*) ao azul (-b*). E o valor L* fornece a luminosidade, tendo a variação do branco (L=100) ao preto (L=0) (Harder, 2005). O Croma é a relação entre os valores de a* e b*, para determinar a cor real do objeto analisado. Hue-Angle é o ângulo formado entre a* e b*, indicando a saturação da cor do objeto.

$$Croma = \sqrt{(a *^2 + b *^2)}$$
 $Hue - Angle = arctg(b */a *)$

4.2.2.9.2 Metodo espectrofotômetro

Para avaliar a cor selecionou-se o espectrofotômetro no comprimento de onda de 560 nm, usando como branco glicerina PA. Realizou-se a leitura em absorbância e usou-se como referência a Escala de Pfund (ANEXO B), para a determinação da cor da amostra (UNIVERSIDADE, 2008).

4.2.3 Avaliação microbiológica

Avaliou-se em duplicata fungos e leveduras e bactérias anaeróbias nas amostras de mel de abelha jatai e de mel de abelha africanizada.

4.2.3.1 Diluição

Realizou-se a primeira diluição dos méis de abelhas jatai e africanizada na razão de 225 mL de água peptonada estéril para 25g da amostra. As diluições subsequentes foram realizadas transferindo 1 mL da primeira diluição para um tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada e seguindo este procedimento até a quinta diluição (SILVA et al, 2010).

4.2.3.2 Contagem de bactérias anaeróbias

Na contagem de bactérias mesófilas anaeróbia, plaqueou-se 1 mL das diluições empregando o meio PCA pela técnica de sobrecamada. E incubou-se por dois dias a 30°C em jarra de anaerobiose. Após o tempo transcorrido, contou-se colônias formadas nas placas, para determinar o numero de unidades formadoras de colônia ($UFC. g^{-1}$) (SILVA et al, 2010).

4.2.3.3 Contagem de Bolores e Leveduras

Para a contagem padrão dos bolores e leveduras, plaqueou-se 1,0 mL das diluições utilizando o meio rosa de bengala e incubou-se em estufa bacteriológica a 30°C durante cinco dias. Após o tempo decorrido, contou-se as colônias formadas nas placas para determinar o número de unidades formadoras de colônia ($UFC. g^{-1}$)(SILVA et al, 2010).

4.4 Análise estatística

Realizou-se nos resultados das análises físico-químicas cálculos de média, desvio padrão e Análise de Variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância, na comparação das médias, utilizando-se o software Microsoft Excel 2010.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS

Os dados obtidos a partir das analises físico químicas dos méis de abelhas Jatai e Africanizadas estão apresentados na tabelas 1.

Tabela 1- Resultados Físico-químicos para mel de Abelha Jatai e de abelha africanizada

Análise	Mel de abelha		Valores	Mel de abelha	l	Lagislação?
físico-químicas	Jatai		Sugeridos ¹	Africanizada		Legislação ²
Açucares Redutores	59,07±1,7639 a	а	Mínimo de	72.60 2.69	b	Mínimo de
(%)			50%	$72,69 \pm 2,68$		65%
Sacarose Aparente	3,59 a	Máximo Máximo	5,08 b	5 00 b	Máximo de	
(%)			de 6%	3,08		6%
Acidez total		Máximo			Máximo de	
	$39,64 \pm 0,52$	а	de 80	$45,35 \pm 1,35$	b	
(meq/Kg)			meq/Kg			50 meq/Kg
рН	$4,74 \pm 0,04$	а	Não	4 02 ± 0 01 b	b	Não
			sugerido	$4,03 \pm 0,01$		estabelecido
Sólidos Insolúveis		2 65 1 0 22	Máximo	2 62 1 0 22 6	а	Máximo de
(%)	$3,65 \pm 0,23$		de 0,4%	$3,63 \pm 0,32$	u	0,1%
Umidade (%) 27,05 ± 0,26	27.05 0.26	а	Máximo	10.02 0.25	b	Máximo de
	$27,05 \pm 0,26$	и	de 35%	$19,03 \pm 0,25$	D	20%
Cinzas (%)	0.67 ± 0.07	а	Máximo	0.26 0.01 h	b	Máximo de
			de 0,6%	$0,26 \pm 0,01$		0,6%
TT: 1:16 .6 .1			Máximo) <i>(</i>
Hidroximetilfurfural	$0,40 \pm 0,32$	а	de	$3,86 \pm 3,16$	þ	Máximo de
$(mg.kg^{-1})$. kg ¹)		$40mg.kg^{-1}$			$60mg.kg^{-1}$

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados físico-químicos obtidos da análise do mel da abelha Jatai foram comparados com os dados referente à legislação Brasileira para méis de abelha *Apis Mellifera*, pois no brasil não há norma vigente para méis de abelhas sem ferrão como no caso da *Tetragonisca angustula* (jatai). Villas-Bôas & Malaspina, (2005), sugerem valores para propriedades físico-químicas para mel

¹ - Valores Sugeridos por Villas-Boas e Malaspina (2005), para mel de meliponíneos no Brasil.

² - Legislação Brasileiras sobre qualidade de meis de Apis Mellifera(BRASIL, 2000).

de abelhas sem ferrão no Brasil, sendo que este trabalho também foi utilizado para comparação com os resultados obtidos.

O percentual médio de açucares redutores e sacarose aparente encontrado no mel de abelha Jatai conforme observado na tabela 1, estão próximos aos resultados encontrados por Beluci et al (2008), que ao avaliar açúcares redutores em méis de abelha Jatai encontrou valores médios de 58,01% e sacarose aparente de 2,40%. E Chiapetti e Braghini (2013) ao avaliar o percentual de açucares redutores em méis de abelha Jatai encontraram valores entre 59,31% a 61,78%. E para sacarose porcentagens entre 2,12% a 4,35%.

Segundo Oliveira et al, (2011), os méis produzidos por abelhas nativas apresentam menor teor em açúcares e gosto mais doce, devido a glicose e a frutose serem os açúcares predominantes neste mel. A quantidade de frutose influencia a doçura do mel e sua alta higroscopicidade.

Para o mel de abelha africanizada, os dados presentes na tabela 1 para açucares redutores e sacarose aparente estão próximos de diversos autores. Como exemplo, Barros (2011) avaliando méis de *Apis Mellifera* encontrou valores médios para açúcares redutores e açúcares não redutores de 71,67% e 2,48% respectivamente. Bertoldi et al, (2004) avaliando amostras de mel de abelhas Africanizadas, encontrou valores médios para açúcares redutores de 68,20% e teores de sacarose de 4,84%.

A legislação Brasileira estabelece para méis de *A. melífera* um valor mínimo de 65% para açúcares redutores e valor máximo de 6% para sacarose aparente (BRASIL, 2000). As quantidades de açúcares estão de acordo com os permitidos pela legislação vigente para o mel da abelha africanizada analisado. Sendo que a quantidade desses diferentes tipos de açúcares pode provocar alterações físicas como viscosidade, densidade, higroscopicidade e cristalização no mel (CAMPOS, 1987 apud BERTOLDI et al, 2004).

As amostras de mel de Jatai estão em desacordo com a legislação Brasileira vigente para mel de abelha africanizada, porém estão em concordância com os parâmetros sugeridos de no mínimo 50% para açúcares redutores e máximo de 6% para sacarose (VILLAS-BÔAS & MALASPINA, 2005).

Vale ressaltar que é de suma importância a análise do conteúdo de carboidratos para diferenciar mel floral de mel de melato (BOGDANOV et al. 2004 apud BARROS, 2011).

Tanto os resultados médios das análises de açucares redutores e sacarose para o mel de abelha jatai diferiu da média dos resultados para méis de abelha africanizada ao nível de 5% de significância (p<0,05).

A umidade avaliada nas amostras de mel de abelha jatai conforme pode-se observar na tabela 1, esta próximo a valores de diversos autores. Como Gonçalves (2010) que encontrou porcentagens média de umidade para mel de abelhas Jatai de 26,2%. Valores semelhantes foram encontrados em méis de abelhas Jatai com média de 27,4% (IWAMA, 1977 apud ANACLETO, 2009).

A umidade encontrada na amostra de mel de abelhas africanizadas esta próximo aos resultados de outros trabalhos conforme se observa na tabela 1, como exemplo de Barros (2011) que avaliando umidade em mel de *Apis Mellifera* encontrou variação entre 16,0 a 19,8%. Bertoldi et al, (2004) avaliando amostras de mel de abelhas africanizadas encontrou valores médio de umidade de 18,2%.

A quantidade de água no mel depende de vários fatores, como, estações do ano, o grau de maturidade no momento da colheita e fatores ambientais (ACQUARONE et al., 2007 Apud BARROS, 2011). Méis com percentuais elevados de umidade pode acelerar o processo de fermentação devido ao aumento da atividade de água. (MESQUITA, et al., 2007 apud CHIAPETTI & BRAGHINI 2013).

Segundo Silva (2000 apud MENDES et al 2009), a maior quantidade de água presente no mel de meliponíneos é devido a que plantas em que a abelha Africanizada faz a coleta de néctar, não se encontra os meliponíneos. Também pela diferente forma das abelhas opercularem o mel, onde a abelha africanizada de uma maneira geral, só opercula o mel quando este se encontra com umidade de 17% a 18%, o que pode ser diferenciado no caso de abelha jatai, no qual opercula os potes de mel com umidade em torno de 24% (EVANGELISTA-RODRIGUES et al, 2005).

A legislação vigente no Brasil para méis de *A. Mellifera* estabelece valor máximo de 20% de umidade (BRASIL, 2000). Villas-Bôas & Malaspina; (2005), sugere-se para o mel de abelhas sem ferrão no Brasil o limite máximo de 35% de umidade. Portanto o mel de abelha jatai esta em desconformidade com a legislação Brasileira vigente para mel de abelha *Apis Mellifera* e de acordo com o estabelecido para os meliponíneos. Já o mel de abelha africanizada esta de acordo com o valor máximo estabelecido pela legislação.

Os valor médio de umidade do mel de abelha jatai e da abelha africanizada diferiram estatisticamente ao nível de significância de 5% (p<0,025).

O teor médio de hidroximetilfurfural encontrado na amostra de mel de abelha Jatai, conforme pode-se observar na tabela 1, esta próximo aos resultados encontrados por outros autores. Como exemplo Gonçalves (2010), que encontrou resultado médio para hidroximetilfurfural (HMF) em méis de abelhas Jatai de 1,93 $mg.kg^{-1}$. E Chiapetti e Braghini (2013) avaliando méis de abelha Jatai, obtiveram resultados para HMF variando entre 0,53 a 1,07 $mg.kg^{-1}$.

O resultado médio de hidroximetilfurfural para o mel de abelhas africanizadas é ligeiramente baixo quando comparado ao de outros autores. Por exemplo, Barros (2011) obteve resultado médio de $30,37mg.kg^{-1}$ para hidroximetilfurfural e Moreti et al. (2007) que encontrou valor médio de 15,7 $mg.kg^{-1}$ de hidroximetilfurfural. Isto é devido principalmente às condições climáticas em que o mel foi produzido e tempo de estocagem.

O hidroximetilfurfural é um parâmetro utilizado para controlar o tratamento térmico limitante para a pasteurização em mel (TOSI et al.,2001 apud FREITAS et al 2010). Freitas et al, (2010) observou o aumento significativo do teor de hidroximetilfurfural, conforme o tempo de tratamento térmico no mel de *Melipona subnitida*. Segundo Oliveira et al, (2011) a estocagem do mel em altas temperaturas propicia o desdobramento da frutose do mel em 1 molécula de hidroximetilfurfural e 3 moléculas de água, criando uma camada liquida e escurecida na superfície e inutilizando o mel.

Quantidades elevadas de HMF, é indicativo que o mel foi submetido a armazenagem prolongada a altas temperaturas ambiente e/ou superaquecimento. Entretanto, White Júnior (1992 apud CARVALHO et al, 2005), em países com temperaturas ambientes altas como países tropicas ou subtropicais, os méis podem ter naturalmente um alto conteúdo de HMF sem que o mel tenha passado por um processo de aquecimento ou adulteração.

A norma Brasileira vigente para méis de abelhas A. Mellifera estabelece valores máximos de hidroximetilfurfural de $60,0~mg.kg^{-1}$ (BRASIL, 2000). Villas-Bôas e Malaspina (2005) sugere para mel brasileiro de meliponíneos valor máximo de $40,0~mg.kg^{-1}$ de hidroximetilfurfural. O mel de jatai esta de acordo com a legislação vigente e também aos valores sugeridos Villas-Bôas e

Malaspina (2005), e o mel de abelhas africanizadas esta de acordo com a legislação vigente.

Pode-se facilmente adulterar o mel por meio da mistura com xarope de milho, de beterraba ou xarope invertido sendo este com grandes quantidades de hidroximetilfurfural (HMF) (MENDES et al, 2009).

A determinação do HMF é um importante indicador da qualidade do mel. Pois ao formar hidroximetilfurfural, provavelmente já ocorreu a perda de algumas enzimas, por exemplo a glicose-oxidase (BERTOLDI et al, 2004).

As quantidades médias de hidroximetilfurfural encontradas no mel de abelha *Tetragonisca angustula* e de abelhas africanizadas diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância (p<0,5).

O resultado médio de cinzas encontrado no mel de abelha jatai (tabela 1) é superior aos resultados de outros pesquisadores como Anacleto (2009), que analisando mel de abelha Jatai obteve porcentagens média de 0,39% e Chiapetti e Braghini (2013) avaliando méis de abelha Jatai encontraram valores variando de 0,15 a 0,17% para cinzas.

A quantidade média de cinzas para o mel de abelhas africanizadas esta próximo a de outras pesquisas, por exemplo Barros (2011) encontrou valores médios de cinzas para o mel de *Apis Mellifera* de 0,2% do peso total, variando entre 0,11 e 0,29% e Chiapetti e Braghini (2013) que apresentaram teores de cinzas em méis de abelhas africanizadas variaram de 0,04 a 0,21%.

Na norma Brasileira vigente, a porcentagem máxima de cinzas é de 0,6% (BRASIL, 2000), e Villas-Bôas e Malaspina (2005) sugerem o mesmo valor máximo para cinzas em méis de abelhas sem ferrão. A quantidade média de cinzas para o mel de abelhas africanizadas esta de acordo com a legislação vigente.

Por outro lado o valor médio de cinzas encontrado no mel de abelha jatai é superior ao estabelecido pela legislação Brasileira, sugerido por Villas-Bôas e Malaspina (2005), e também superiores aos resultados de outros autores. Estes resultados estão relacionados com a possível falha na manipulação do mel, na decantação/filtração insuficiente ou falhas no processamento durante a retirada do mel da colmeia pelo apicultor (EVANGELISTA-RODRIGUES, 2005).

Os valores médios de cinzas para o mel de abelha jatai e do mel de abelha africanizada diferiram entre si com nível de significância de 5% (p<0,05).

Os resultados de acidez e pH do mel de abelhas Jatai (tabela 1) são maiores que de outros autores como Anacleto (2009), que obteve em amostras de méis de abelhas Jatai valores de pH variando de 3,54 a 4,64 e acidez variando de 17,0 a 98,0 $meq.kg^{-1}$. Chiapetti e Braghini (2013), avaliando amostras de méis de abelha Jatai encontraram para acidez valores entre 25,66 e 29,31 $meq.kg^{-1}$ e para pH valores de 4,38 e 4,01.

O mel e abelhas africanizadas apresentou resultados de acidez total acima do encontrado por outros autores. Como exemplo Moreti et al (2007), que analisando méis de A. Mellifera encontrou valores de pH variando de 3,4 a 5,3, e teores de acidez variando de 6,0 a 48,0 $meq.kg^{-1}$. Barros (2011), avaliando o pH de méis da abelhas Apis Mellifera, encontrou valores médio menores de pH de 3,98 e de acidez total com valor médio de 32,34 $meq.kg^{-1}$. O resultado de pH para o mel de abelha africanizada, como observados na tabela 1, esta próximo aos resultados dos autores citados anteriormente.

Os resultados superiores da acidez encontrados no mel de abelha africanizada e de abelha jatai estão relacionados a fatores diversos como a variação dos ácidos orgânicos causada pelas diferentes fontes de néctar, atividade enzimática da glicose-oxidase que origina o ácido glucônico, pela ação das bactérias durante a maturação e aos minerais presentes na sua composição (WHITE, 1975).

Normalmente o mel de abelha Jatai possui maior quantidade de ácidos livres quando comparado com a quantidade de ácidos no mel de abelha africanizada, isto se deve a maior atividade de água favorece a ação da enzima glicose-oxidase formando ácidos. Entretanto, isto não é evidente devido a maior quantidade de minerais no mel da abelha Jatai, que acabam formando ácidos salinizados.

A legislação brasileira para méis de A. Mellifera estabelece para a acidez o valor máximo de 50 $meq.kg^{-1}$ (BRASIL, 2000). Villas-Bôas e Malaspina(2005) sugerem para méis de abelhas sem ferrão no Brasil acidez máxima de 80 $meq.kg^{-1}$.

A acidez encontrada para o mel de abelha africanizada e para o mel de abelha jatai estão de acordo com o valor máximo determinado pela legislação. A atual legislação Brasileira não estabelece valores de pH para o mel.

A relação do pH das amostras e da acidez estão corretamente correlacionados, pois o mel de abelha africanizada que possui maior quantidade de ácidos apresenta pH mais baixo que o mel de Jatai que possui menor quantidade de ácidos.

Os resultados médios das analises de acidez total e de pH para o mel de abelha jatai e para o mel de abelha africanizada são estatisticamente diferentes ao nível de significância de 5% (p<0,05).

Empregando o método espectrofotométrico para avaliar a cor do mel de jatai conclui-se que a cor âmbar claro é predominante. Para Anacleto (2009), utilizando o método espectrofotométrico para avaliar cor de méis de abelha Jatai encontrou cores variando do âmbar ao âmbar-extra-claro, prevalecendo a cor âmbar (50% das amostras). Alves et al (2012), empregando a mesma técnica para avaliar cor em méis de abelha jatai encontrou a coloração predominante de âmbar-claro.

Concluiu-se pelo método espectrofotométrico que a cor predominante na amostra de mel de abelha africanizada é a cor âmbar. Barros (2011), empregando o método espectrofotométrico encontrou a cor âmbar claro como predominante em amostras de méis de abelha *Apis Melliferas*.

Segundo Moreti (2007), avaliando méis de Apis Melliferra com a técnica espectrofotométrica, concluiu de uma forma geral que os méis do estado do Ceará são mais claros comparando com méis de outras regiões brasileiras. Estes foram classificados desde branco-água, branco, extra-branco, âmbar extra-claro, âmbar, âmbar-claro até âmbar-escuro.

Os resultados de cor encontrados empregando o colorímetro serão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 - Resultados médios de cor utilizando o método colorimétrico

	Mel de abelha Jatai	Mel de Abelha Africanizada
L*	$25,27 \pm 0,04$	$23,7 \pm 0,4$
Croma	$4,43 \pm 0,07$	$6,55 \pm 0,58$
Hue-Angle	$1,32 \pm 0,00$	0.89 ± 0.05

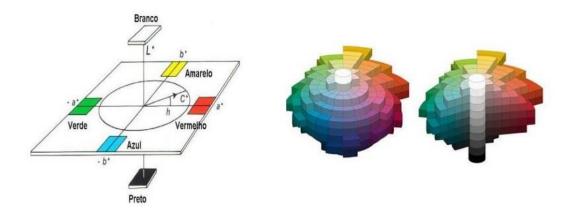
Croma- Saturação da cor

Hue Angle - Tonalidade da cor

Avaliando a cor do mel pelo método colorimétrico, os resultados para luminosidade indicam que o mel de abelha jatai é mais claro quando comparado ao mel de abelha africanizada. Pelos valores de Croma que indicam a saturação

da cor, observa-se que o mel de abelha africanizada é mais saturado, ou seja, possui tonalidade mais "sólida ou pura" quando comparado ao mel de abelha jatai. Os valores de Hue-Angle observados indicam que o mel de abelha africanizada possui a cor mais próxima da cor vermelha e a cor do mel de abelha jatai se distancia da cor vermelha e se aproxima da cor amarela como observado pela figura 1 (HUNTER LAB, 2008).

Figura 1 - Demonstração do Espectro de Cores (HUNTER LAB, 1978)



A cor do mel possui relação com a origem floral, fatores climáticos, processamento e armazenamento (SEEMANN e NEIRA, 1988; SMITH, 1967 apud (UNIVERSIDADE, 2008).

As cores dos dois méis avaliados estão de acordo com a legislação brasileira, pois esta considera aceitáveis variações de branco d'água a âmbar escuro (BRASIL, 2000). Quando comparando os dois métodos avaliativos de cor, pode-se considerar que os dois apresentam resultados satisfatórios, pois os dois métodos indicam que a cor do mel de jatai se apresenta mais claro e de tom próximo a cor amarela, que a cor do mel de abelha africanizada.

Tanto no mel de abelha jatai, quanto no mel de abelha africanizada, a quantidade média de sólidos insolúveis estão acima dos valores estipulados pela legislação Brasileira vigente para mel de abelha africanizada, quanto pelos valores sugeridos para meliponíneos por Villas-Bôas & Malaspina (2005).

A legislação preconiza que os valores estejam abaixo de 0,1%. E Villas-Bôas & Malaspina (2005), sugerem o limite máximo de sólidos insolúveis de 0,4% para os Meliponíneos.

Os resultados encontrados para sólidos insolúveis no mel de abelhas jatai e no mel de abelhas africanizadas, estão acima dos valores médios obtidos por Alves et al (2011), que avaliando amostras de méis de abelhas *T.angustula*, obteve valores para sólidos insolúveis de 2,86%.

Chiapetti e Braghini (2013) encontrou valores para sólidos insolúveis variando de 0,16% a 0,36% para o mel das abelhas africanizadas e de 0,25% a 0,34% para o mel de abelhas jataí. Silva (2006), avaliando amostras de méis de abelhas africanizadas encontrou valor médio de 0,02 para sólidos insolúveis.

Estes valores superiores ao de outros autores e também acima do preconizado pela legislação Brasileira é indicativo da presença de impurezas no mel, como resíduos de cera, patas e asas das abelhas, outros elementos inerentes do mel ou do processamento.

Os valores médios das análises de sólidos insolúveis para o mel de abelha jatai são estatisticamente iguais ao nível de 5% de significância (p>0,05).

5.7 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

A legislação brasileira vigente não estabelece análises microbiológicas em mel, apenas exige que se deve seguir as boas práticas de higiene e manipulação do produto (BRASIL, 2000).

A microbiota do mel é naturalmente introduzida pelas abelhas, onde se pode encontrar esporos bacterianos, bolores e leveduras. Além destes, outros microrganismos podem ser encontrados no mel devido a falta de higiene durante a coleta e manipulação (OLAITAN et al., 2007 apud GOMES, 2009)

Tabela 3 - Resultados microbiológicos para o mel de abelha jatai e africanizada

	Mel de abelha Jatai	Mel de abelha Africanizada
Bolores e leveduras	$8 \times 10^3 \ UFC \ g^{-1}$	$4 \times 10^{3} \ UFC \ g^{-1}$
Bactérias Anaeróbicas	$3 \times 10^{3} \ UFC \ g^{-1}$	N.D.

N.D. - Não Detectado

A contagem de bolores e leveduras no mel de abelha africanizada esta próximo de outros autores como Souza et al (2012), que avaliando a presença de bolores e leveduras em mel de abelhas africanizadas encontrou valor médio para a contagem de bolores e leveduras de $1.8 \times 10^3~UFC~g^{-1}$ e Silva et al (2008), que avaliando bolores e leveduras em amostras de mel de abelha *Apis Mellifera* encontrou valores de $1.8 \times 10^3~a$ $2.7 \times 10^5~UFC~g^{-1}$. s.

A contagem de fungos e leveduras para o mel de abelha Jatai é próxima de outros autores como de Souza et al (2009), que avaliando bolores e leveduras em amostras de mel de abelha Jatai encontrou valores variando entre 3.5×10^3 e 4.4×10^3 UFC g^{-1} . E Oliveira (2013), avaliando bolores e leveduras em amostras de mel de abelha Jatai, encontrou valores de 7.0×10^3 UFC g^{-1} .

Muitas abelhas trazem fungos para a colmeia em substituição do pólen. Esta ocorrência já foi verificadas para espécies dos gêneros *Apis, Trigona e Partamona*, enquanto para as *espécies Melipona quadrifasciata, Tetragonisca. angustula e Trigona fulviventris* verificou-se a colheita de leveduras isoladas e bactérias *Bacillus meliponotrophicus* (ELTZ et al. 2002; TEIXEIRA et al. 2003 apud SOUZA, 2011).

Os fungos não sobrevivem frente à condições de alta concentração de açúcares quando o néctar é transformado em mel, porém alguns podem resistir e se multiplicar, podendo causar a fermentação do mel e causando desvalorização do produto. (HOOPER, 1976 apud SANTOS et al, 2011). O maior problema causado pela presença de bolores e leveduras no mel pode ser a fermentação, resultando no consumo dos açúcares pelas leveduras e produção de numerosos subprodutos, alterando as características sensoriais naturais do mel (Hooper 1976 apud OLIVEIRA et al, 2013).

A maior quantidade de bolores e leveduras encontradas no mel de abelha *Tetragonisca Angustula* esta associada a maior atividade de água, característica do mel de abelhas sem ferrão (SILVA, 2007 apud SOUZA, 2011).

A maior quantidade de bactérias anaeróbias no mel de abelha *Tetragonisca* angustula é devido a maior quantidade de umidade e portanto de água livre presente no mel de abelhas sem ferrão. A presença destes microrganismos anaeróbicos no mel pode ser indicativo da presença de bactérias patogênicas do gênero clostridium e bacillus.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Frente ao valor do mel de abelha jatai em relação à suas propriedades nutricionais e sensoriais, é de suma importância que as autoridades brasileiras o considerem como um produto nacional e possibilitando o registro e comércio do

mesmo. Isto acontecerá por meio de uma readequação da legislação brasileira sobre méis, garantindo aos consumidores a qualidade do produto.

Devido às dificuldades de coleta e manipulação, os méis analisados da cidade do Rio Bonito do Iguaçi-PR apresentam cargas microbianas consideráveis e necessitando de atenção, pois normalmente os consumidores adquirem mel de produtores que não seguem boas práticas de manipulação. Acabando de forma geral fornecendo produtos de baixa qualidade higiênica e microbiológica.

Ao comparar os méis de abelhas jatai e de abelhas africanizadas é perceptível suas diferenças nas principais características físico-químicas como teor de açucares redutores e totais, umidade e acidez. Portanto pode-se considerar de forma geral que os méis avaliados nesta pesquisa se diferem estatisticamente em relação às características físico-químicas (p<0,5). Entretanto, os resultados encontrados estão de acordo com a maioria de estudos realizados para caracterização de mel da abelha Jataí e de abelha africanizada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, T.T.L.; MENESES, A.R.V; SILVA, J.N; PARENTE, G.D.L.; NETO, J.P.H. Caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis de abelhas nativas do nordeste brasileiro, Mossoró-RN, 2011

ANACLETO, D.A.; SOUZA, B. A; MARCHINI, L.C; MORETI A.C.C.C. Composição de amostras de mel de abelha Jataí, Campinas 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL - AOAC. Official Methods of Analysis. 2000.

Belucci, G. Azeredo, L. Lorenzon, M.C. Análises Físico-Químicas de Méis de Apis mellifera & Tetragonisca angustula da Costa Verde, Estado do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ:2008

BERA, A. Composição físico-química e nutricional do mel adicionado com própolis, Dissertação apresentada á Universidade de São Paulo, Ciência dos Alimentos, São Paulo-SP, 2004.

ARRUDA, C.M.F; MARCHIN, L.C.; SODRÉ, G.S. MORETI, A.C.C.C. Características físico-químicas de amostras de méis de apis mellifera l., 1758

(hymenoptera, apidae) da região da chapada do Araripe, município de Santana do Cariri, estado do Ceará, Nova Odessa-SP, 2004.

BARROS, L.B. Perfil sensorial e de qualidade do mel de abelha (apis mellifera) produzido no estado do Rio de Janeiro, Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2011

BERTOLDI, F.C.; GONZAGA, L.; REIS, V.D.A Características físico-químicas do mel de abelhas africanizadas (Apis mellifera scutellata), com florada predominante de hortelã- do-campo (Hyptis crenata), produzido no Pantanal, Corumbá-MS, 2004

BRASIL; Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Defesa Animal. Legislações; Legislação por Assunto; Legislação de Produtos Apícolas e Derivados; Instrução Normativa n. 11, de 20 de outubro de 2000; Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel.

CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; ALVES, R. M. O. Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química, Cruz das Almas - BA: 2005.

CARVALHO, R.G. Apis mellifera: reprodução, polinização e produção de mel, Bebedouro-Sp, 2010.

CHIAPETTI, E.; BRAGHINI, F. Comparação das características físicoquímicas do mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) e abelhas jataí (*Tetragonisca angustula*); Trabalho de conclusão de curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão-PR:2013.

CAC-Codex Alimentarius Commission. Official methods of analysis. v.3, Supl.2, 1990. p.15-39.

ESCOBAR, A.L.S ;XAVIER, F.B. Propriedades fitoterápicas do mel de abelhas, Maringá-PR, 2013.

EVANGELISTA-RODRIGUES, A.E.; SILVA, E. M. S. da; BESERRA, M.F.; RODRIGUES, M. L. Análise físico-química de méis das abelhas Apis mellifera e Melípona Scutellaris produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. Ciência Rural, v. 35, n. 5, Santa Maria - RS: 2005.

FERREIRA, C. M. Caracterização de méis da Serra do Caramulo; Dissertação de mestrado, Universidade de Aveiro, 2008.

FREITAS, W.E.S. F; AROUCHA, M. M.E.; SOARES, P. M. K.; MENDES, F.I.B.; OLIVEIRA, V. R.; SANTOS, M.C.A. Parâmetros Físico-Químicos Do Mel De Abelha Sem Ferrão (Melipona Subnitida) Após Tratamento Térmico; Mossoró- RN, 2010.

GOIS, G.C.; LIMA, C.A.B; SILVA, L.T.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A. Composição do mel de apis mellifera: requisitos de qualidade, Areia-PB, 2013.

GONÇALVES, M.C; TERÁN-ORTIZ, G.B.; GOULART, E.D.; GONÇALVES, G.L. Caracterização Físico-química de mel de abelha sem ferrão proveniente do alto São Francisco, Bambui-MG, 2010.

GOMES, S.P.M. Caracterização e avaliação biológica de méis comerciais, Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança, Qualidade e Segurança Alimentar, Bragança, Portugal, 2009.

HUNTER LAB, Measuring Color using Hunter L, a, b versus CIE L*a*b*, [S.L.], 1978.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4ª. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JAY, J. M. Microbiologia de alimentos. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005 712p.

KLEINERT, A. M. P.; FERNANDES, P. C. Manual de Manejo de Abelhas sem ferrão; São Paulo – SP, 2007.

MENDES, C. G.; SILVA, J. B. A.; MESQUITA L. X.; MARACAJÁ P. B. As análises de mel: revisão; Revista Caatinga, Universidade Federal rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró, 2009.

MORETI, A.C.C.C.; SODRÉ, G.S.; MARCHINI, L.C.; OTSUK, I.P. Características físico-químicas de amostras de méis de apis melliferal. do estado do Ceará, Brasil, Lavras-MG, 2007.

OLIVEIRA, K.A.M; RIBEIRO, L.S.; OLIVEIRA, G.V. Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de mel de abelhas canudo

(scaptotrigona depilis) e jataí (tetragonisca angustula), Campina Grande-PB, 2013.

OLIVEIRA, M. L.; CUNHA, J. A. Abelhas africanizadas Apis mellifera scutellata Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica, Manaus-AM, 2005.

PERALTA, E.D. Atividade antimicrobiana e composição química de méis do estado da Bahia, Tese apresentada à Universidade Estadual de Feira de Santana para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia, Feira de Santana-BA, 2010.

PEREIRA, A. P. P.; Caracterização de Mel com vista à Produção de Hidromel; Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar; Bragança: 2008.

PEREIRA, F.M. Presença da bactéria causadora do botulismo no mel de abelhas. [S.L.], 2007

RagazaniI, A.V.F. Schoken-IturrinoI, R.P. Garcia, G.R. Delfino, T.P.C. Poiatti, M.L. Berchielli, S.P. Esporos de Clostridium botulinum em mel comercializado no Estado de São Pauloe em outros Estados brasileiros.

Jaboticabal-SP, 2007.

SANTOS, D.C.; OLIVEIRA, E.N.A. MARTINS, J.N.; ALBUQUERQUE. E.M.B. Qualidade físico-química e microbiológica do mel de Apis melífera comercializado na cidade de Russas, CE, João Pessoa- PB, 2011.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. Manual de métodos de analise microbiólogica de alimentos e água. 4° edição, São Paulo-SP, 2010.

SILVA, M.B.L; CHAVES, J.B.P; MESSAGE, D.; GOMES, J.C.; GONÇALVES, M.M.; OLIVEIRA, G.L Qualidade microbiológica de méis produzidos por pequenos apicultores e de méis de entrepostos registrados no serviço de inspeção federal no estado de minas gerais, Araraquara-SP, 2008

SOUZA, B.A. Caracterização e controle de qualidade de mel de abelhas, Teresina-Pi, 2013.

SOUZA, B.A. Caracterização físico-química e qualidade microbiológica de amostras de mel de abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponinae) do Estado da Bahia, com ênfase em Melipona Illiger, Tese apresentada á Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2008.

SOUZA, J.M.B. Perfil bromatológico de amostras de mel de abelhas sem ferrão produzidas na microrregião do seridó do Rio Grande do Norte, Dissertação apresentada à Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras-PB, 2011.

SOUZA, L.S.; BARBARA, M.F.S. SODRÉ, G.S.; SANTOS, P.C.; ALMEIDA, A.M.M.; CARVALHO, C.A.L. Qualidade microbiológica do mel de Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) produzido na Região Nordeste do Estado da Bahia, Cruz das Almas-BA, 2012.

TOLEDO, A.A.; TORAL, V.B.; MIRANDA, F.L.B; SHIRAISHI, S.; HASHIMOTO, A.; HIDEO, J.; SILVA, W. R. Ocorrência e coleta de colônias e de enxames de abelhas africanizadas na zona urbana de Maringá, Acta Scientiarum. Animal Sciences, vol. 28, núm. 3, Maringa-PR, 2006, pp. 353-359.

UMADA, M. K.; SEKINE, E. S. Atividade antimicrobiana do mel da abelha jataí tetragonisca angustula latreille (hymenoptera: apidae, meniponinae) em diferentes concentrações, Campo Mourão-PR, 2010.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO. Centro de ciências exatas e tecnologia, Curso de análises físico-químicas e microbiológicas de mel de abelha, São Luís-MA, 2008.

VÉRAS, S.O. Parâmetros de diferenciação dos méis dos principais grupos de abelhas criadas para a produção de mel na bahia, dissertação apresentada a Universidade Federal do Recôncavo Da Bahia, Ciências Agrárias, Ambientais E Biológicas, Cruz das Almas-BA, 2012.

VILLAS-BÔAS, J.; MALASPINA, O. **Parâmetros físico-químicos propostos para o controle de qualidade do mel de abelhas indígenas sem ferrão**, Rio Claro-SP, 2005.

VILLAS-BÔAS, J. Manual Tecnológico : Mel de Abelhas sem Ferrão , 1° edição, Brasília-DF: 2012.

WENZEL, J.M. Avaliação da qualidade microbiológica do mel não inspecionado comercializado na cidade de picos e macrorregião do estado do Piauí, Picos-PI, 2012.

ANEXOS

ANEXO A – Tabela de Chataway

Índice de Refração a 20 °C	Umidade (%)	Índice de Refração a 20 °C	Umidade (%)
1,5030	13,4	1,4930	17,4
1,5025	13,6	1,4925	17,6
1,5020	13,8	1,4920	17,8
1,5015	14,0	1,4915	18,0
1,5010	14,2	1,4910	18,2
1,5005	14,4	1,4905	18,4
1,5000	14,6	1,4900	18,6
1,4995	14,8	1,4895	18,8
1,4990	15,0	1,4890	19,0
1,4985	15,2	1,4885	19,2
1,4980	15,4	1,4880	19,4
1,4975	15,6	1,4876	19,6
1,4970	15,8	1,4871	19,8
1,4965	16,0	1,4866	20,0
1,4960	16,2	1,4862	20,2
1,4955	16,4	1,4858	20,4
1,4950	16,6	1,4853	20,6
1,4945	16,8	1,4849	20,8

^{*} Correção para temperatura diferente de 20 °C: adicione ou subtraia 0,00023 ao/do valor encontrado na tabela para cada grau acima ou abaixo de 20 °C.

ANEXO B - Escala Pfund

Cor	Escala de Pfund	Faixa de cor
Branco d'água	1 a 8 mm	0,030 ou menos
Extra branco	mais de 8 a 17 mm	mais de 0,030 inc. 0,060
Branco	mais de 17 a 34 mm	mais de 0,060 inc. 0,120
Extra âmbar claro	mais de 34 a 50 mm	mais de 0,120 inc. 0,188
Âmbar claro	mais de 50 a 85 mm	mais de 0,188 inc. 0,440
Âmbar	mais de 85 a 114 mm	mais de 0440 inc. 0,945
Âmbar escuro	mais de 114 mm	mais de 0,945 inc

ANEXO C - Preparo das Soluções Carrez I e Carrez II

Solução de Carrez I – Dissolver 15 g de ferrocianeto de potássio – K_4 [Fe (CN)6] . $3H_2O$ em água e completar para 100 mL.

Solução de Carrez II – Dissolver 30 g de acetato de zinco – Zn $(CH_3COO)_2$. $2H_2O$ em água e completar para $100\ mL$.

Solução de bissulfito de sódio — NaHSO $_3$ a 0,2% m/v — Dissolver 0,20 g de bissulfito de sódio em água e diluir a 100 mL.