

Greici Bergamo

**MARCADORES DE AUTENTICIDADE PARA
DIFERENCIAÇÃO ENTRE MÉIS DE MELATO DE
BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham) E FLORAIS
PRODUZIDOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA**

Tese submetida ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências dos Alimentos
da Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Doutor em Ciência dos Alimentos.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Carolina
de Oliveira Costa

Florianópolis
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Bergamo, Greici

Marcadores de Autenticidade para Diferenciação
entre Méis de Melato de Bracatinga (*Mimosa
scabrella* Bentham) e Florais Produzidos no Estado
de Santa Catarina / Greici Bergamo ; orientador,
Ana Carolina de Oliveira Costa, 2019.

189 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de
Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis,
2019.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Análise
quimométrica. 3. Parâmetros de identidade e
qualidade. 4. Adulteração. I. Costa, Ana Carolina de
Oliveira. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos
Alimentos. III. Título.

Greici Bergamo

Esta Dissertação/Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de “Doutor em Ciência dos Alimentos” e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos

Florianópolis, 15 de fevereiro de 2019.

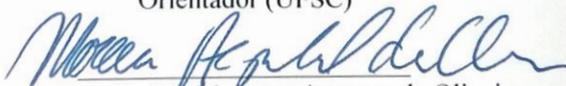


Prof. (a). Dr. (a). Ana Carolina de Oliveira Costa
Coordenador

Banca Examinadora:



Prof.(a). Dr.(a). Ana Carolina de Oliveira Costa
Orientador (UFSC)



Prof.(a). Dr.(a). Marcone Augusto de Oliveira
Membro (UFJF)



Prof.(a). Dr.(a). Heitor Daguer
Membro (MAPA)



Prof.(a). Dr.(a). Edna Regina Amante
Membro (UFSC)

Este trabalho é dedicado à minha
querida família.

AGRADECIMENTOS

O andar foi longo e finalmente chegamos ao final de mais uma etapa. Escrevo esta primeira frase em 1ª pessoa do plural porque não cheguei até aqui sozinha. Assim, dedico esse espaço para agradecer todos que de uma forma ou outra contribuíram nessa caminhada e que me ajudaram a estar aqui.

Obrigada a Deus por me dar sorte, por me guiar pelo caminho certo e sempre me mostrar que depois de um dia escuro o sol sempre volta a brilhar.

Obrigada a minha querida família, meus pais Francisco Edimar Bergamo e Grisilda Liesemberg Bergamo e meu irmão Anderson Bergamo por serem fontes de inspiração, por me apoiarem, entenderem a minha ausência física e sempre se manterem presentes por mensagens e ligações.

Obrigada a minha orientadora Ana Carolina de Oliveira Costa, pela paciência e por acreditar no meu potencial. Sem a sua confiança não estaria aqui hoje.

Obrigada a minha querida colega e amiga Siluana Katia Tischer Seraglio, pela paciência e por toda a colaboração e dedicação com meu trabalho. Você nunca poupou esforços para me ensinar e junto comigo trabalhou arduamente nesse lindo projeto. Mais uma vez agradeço a Deus por ter te colocado no meu caminho. Sem seu apoio talvez não conseguiria terminar essa jornada. Que Deus ilumina seus dias assim como você iluminou os meus! Você é uma pessoa e profissional maravilhosa e com certeza sua carreira será incrível!

À minha querida amiga Fernanda Demoliner, por sempre se manter presente e sempre passar o seu conhecimento. Os dias ficaram mais leves com a sua companhia!

À minha amiga de longa data, Gabriela Vicelli, pelo incentivo, por toda a ajuda, por nunca cobrar minha ausência e sempre se manter presente.

Aos meus colegas de laboratório, pelas horas diárias, pela troca de aprendizado, pelos momentos de conversa e distração.

Aos meus queridos avós Osvaldo Liesemberg (*In Memoriam*) e Maria Liesemberg (*In Memoriam*) que, por toda a vida, dedicaram-se à apicultura com muito amor. Por muito tempo, o mel que eles produziam foi considerado por muitos como “adulterado” e hoje, sei que, independente de onde estiverem, estão orgulhosos por saber que aquele mel estranho e diferente se tratava do mel de melato de bracinga. Opa

e Oma, agora todo o mundo sabe que vocês produziam um mel de excelente qualidade!

À minha madrinha Ivone Liesemberg e minha prima Grasielle Caldatto por me acolherem tão bem em sua casa quando cheguei em Florianópolis.

Ao meu namorado, Alan Cassio Borsuk, pela paciência e também por entender a ausência.

À banca de qualificação que fez valiosas considerações no projeto e que resultaram em uma grande melhoria na tese.

Agradecimento especial à todos os apicultores e à Epagri (Empresa Agropecuária de Extensão Rural de Santa Catarina) que gentilmente colaboraram com o nosso trabalho fornecendo as amostras e muito conhecimento.

À Professora Dr^a. Roseane Fett e ao Técnico de Laboratório Luciano Gonzaga pelos ensinamentos e parceria.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina pela bolsa de estudos e pelos recursos financeiros utilizados para a realização da pesquisa.

Enfim, a todos, que mesmo não sendo mencionados, colaboraram de alguma forma com o desenvolvimento dessa tese e que estarão sempre em meu coração.

Obrigada, obrigada e obrigada!

“Se as abelhas desaparecerem da face da Terra, a humanidade terá apenas mais quatro anos de existência. Sem abelhas não há polinização, não há reprodução da flora, sem flora não há animais, sem animais, não haverá raça humana.”
Albert Einstein (1879/1955).

RESUMO

O mel é produzido pelas abelhas a partir do néctar coletado de flores (méis florais) ou por meio de secreções de plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas (méis de melato). No Brasil, principalmente no Estado de Santa Catarina, existe a ocorrência do mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), produzido pelas abelhas a partir das excreções oriundas do mutualismo entre a cochonilha (insetos identificados dos gêneros *Tachardiella* sp. e *Stigmacoccus* sp.) e a árvore da bracatinga. A diferenciação de origem entre méis florais e de melato é um desafio, e, tradicionalmente é realizada por meio do estudo melissopalínológico, análise complexa que muitas vezes não fornece resultados satisfatórios. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar possíveis marcadores de diferenciação e autenticidade de méis de melato de bracatinga como forma de auxiliar sua diferenciação de méis florais produzidos em mesmas regiões do estado de Santa Catarina. Os resultados obtidos demonstram que o teor de minerais pode ser utilizado como um possível marcador de autenticidade uma vez o potássio esteve presente em níveis superiores em méis de melato de bracatinga quando comparado aos méis florais produzidos na mesma região (teores médios de 5416 mg 100 g⁻¹ e 1951 mg 100 g⁻¹, respectivamente) e o manganês não foi encontrado em níveis detectáveis nas amostras de mel de melato avaliadas. O perfil colorimétrico também revelou-se como uma característica específica desse tipo de mel capaz de diferenciá-lo de méis florais. Ainda, os parâmetros físico-químicos, em especial a condutividade elétrica, capacidade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu, capacidade redutora de ferro (FRAP), capacidade de desativação do radical 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), glicose e acidez livre mostraram-se suficientes e capazes de promover a correta distinção desses méis. O perfil espectrofotométrico das amostras de mel de melato de bracatinga e de méis florais, associados à análise quimiométrica, também permitiu classificar e diferenciar as distintas classes de mel. Quanto à detecção de fraudes, o teor de minerais e o perfil colorimétrico foram capazes de promover a diferenciação entre méis de melato de bracatinga puros e amostras adulteradas em laboratório com adição de mel floral (nas proporções de 95:5, 85:15, 75:25, m/m), confirmando esses parâmetros como importantes na determinação de adulterações. Como conclusão, este estudo demonstrou a aplicabilidade de diferentes métodos analíticos aliados à estatística no fornecimento de informações importantes, capazes de evidenciar a autenticidade e detecção de fraudes de méis de melato de bracatinga.

Palavras-chave: Análise quimiométrica. Parâmetros de identidade e qualidade. Adulteração.

ABSTRACT

Honey is produced by bees from nectar collected from flowers (blossom honeys) or through plant secretions or excretions of plant-sucking insects (honeydew honeys). In Brazil, principally in the State of Santa Catarina, there is the occurrence of bracatinga honeydew honey (*Mimosa scabrella* Benth), produced by the bees from the exudate obtained through the mutualism between the cochineal (insects of the genus *Tachardiella* sp. and *Stigmacoccus* sp.) and the bracatinga tree (*Mimosa scabrella* Benth). The differentiation of botanical origin, mainly between blossom honeys and honeydew honey, is a challenge, and it is traditionally performed through the melissopalinalogical study, a laborious analysis that often does not provide satisfactory results. Therefore, the present study had as objective to evaluate possible markers of differentiation and authenticity of bracatinga honeydew honey as a way of helping their differentiation between blossom honeys produced in the state of Santa Catarina. The results obtained demonstrate that the mineral content can be used as a possible marker of authenticity since potassium was present at higher levels in honeydew honeys when compared to floral honey (mean levels of 5416 mg 100 g⁻¹ to 1951 mg 100 g⁻¹, respectively). In additionally, manganese was not found at quantifiable levels in this type of honey. The colorimetric profile was also revealed as a specific characteristic in this type of honey. In addition, the set of physicochemical parameters, especially the electrical conductivity, reducing capacity of Folin-Ciocalteu, ferric reducing antioxidant power (FRAP), free radical scavenging activity (DPPH), glucose and free acidity showed sufficient and capable of promoting the correct distinction of these honeys. The spectrophotometric profile of bracatinga honeydew honey and blossom honeys, associated with chemometric analysis, was able to classify and differentiate the different classes of honey. Still, regarding the physicochemical parameters evaluated, the mineral content and color were able to promote the differentiation of honey from pure bracatinga honeydew honey and adulterated with floral honey (in the proportions of 95: 5, 85:15, 75: 25) demonstrating that they would also be good parameters indicative of adulteration. Therefore, study demonstrated the applicability of different analytical methods allied to statistics in the provision of important information capable of evidencing the authenticity and detection of frauds of bracatinga honeydew honeys.

Keywords: Chemometric analysis. Parameters of identity and quality. Adulteration.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 – Abelha <i>Apis mellifera</i>	31
Figura 1.2 – Abelha <i>Apis mellifera</i> polinizando <i>flor de cajueiro - Anacardium occidentale</i> (esquerda) e flor de macieira - <i>Malus domestica</i> (direita).....	32
Figura 1.3 – Árvore bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham).....	34
Figura 1.4 – Cochonilha (<i>Tachardiella</i> sp.; Homoptera: Lacifferidae) (esquerda). Cochonilha (espécie não definida) liberando excreções (direita).....	35
Figura 1.5 – Excreções produzidas por cochonilhas em árvores de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham).....	35
Figura 1.6 – Abelha coletando secreções sacarínicas da cochonilha presentes na bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham).	36

CAPÍTULO 2

Figura 2.1 – Análise de componentes principais para amostras de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) e méis florais utilizando como variáveis as características físico-químicas e capacidade de redução e desativação das amostras.....	97
Figura 2.2 – Análise de componentes principais para amostras de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) e méis florais utilizando como variáveis os resultados obtidos para condutividade elétrica, acidez livre, glicose, capacidade redutora de ferro (FRAP) e de Folin-Ciocalteu e de desativação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).....	98

CAPÍTULO 3

Figura 3.1 – Mapa de Santa Catarina: cidades onde as amostras de mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) e méis florais foram coletadas.	115
Figura 3.2 - Análise de agrupamento para méis de melato bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) utilizando o método de separação de Ward e calculada considerando a distância euclidiana.....	118
Figura 3.3 - Análise de agrupamento para méis de origem floral utilizando o método de separação de Ward e calculada considerando a distância euclidiana.	119
Figura 3.4 – Teores médios dos minerais investigados nas amostras de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) (puros,	

comerciais e adulterados) e florais, coletadas no estado de Santa Catarina.....	122
Figura 3.5 - Modelo de Árvore de Classificação e Regressão de Dados C&RT utilizando o conteúdo mineral como variável (mg kg^{-1}) para diferenciação das amostras de mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) puro, mel floral e mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) adulterado com mel floral.....	126

CAPÍTULO 4

Figura 4.1 – Mapa do Estado de Santa Catarina: localização das cidades onde foram realizadas as coletas de mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham).....	142
Figura 4.2 – Mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) em favo.....	143
Figura 4.3 – Drenagem (esquerda) e filtração (direita) dos méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham).....	143
Figura 4.4 – Mapa do Estado de Santa Catarina: localização das cidades onde foram realizadas as coletas de mel floral.....	144
Figura 4.5 - Análise de agrupamento para méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) utilizando o método de separação de Ward e calculada considerando a distância euclidiana.	145
Figura 4.6 - Análise de agrupamento para méis de origem floral utilizando o método de separação de Ward e calculada considerando a distância euclidiana.	146
Figura 4.7 – Análise de componentes principais de amostras de mel de melato de bracatinga puras e méis florais utilizando como variáveis os parâmetros colorimétricos L^* , a^* , b^* , C^*_{ab} e h^*_{ab}	151
Figura 4.8 – Modelo de Árvore de Classificação e Regressão - C&RT- utilizando os parâmetros colorimétricos L^* , a^* , b^* , C^*_{ab} e h^*_{ab} como variáveis.....	153

CAPÍTULO 5

Figura 5.1 – Diluição das amostras de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) e méis florais (mel:água): a) 4:1 (m:m), b) 3:2 (m:m), c) 2:3 (m:m) e d) 1:4 (m:m).	175
Figura 5.2 – Análise de componentes principais para classificação de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) e méis florais (ambos referentes a safra de 2016) a partir de 420 variáveis: 380 nm a 800 nm.....	176
Figura 5.3 – Análise de Componentes Principais para classificação de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) e méis	

florais (ambos referentes a safra de 2016) a partir de 105 variáveis: de 380 nm a 485 nm.	177
Figura 5.4 – Análise de Componentes Principais para classificação de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) (safras de 2014, 2016 e 2018) e méis florais (safra 2016) utilizando 105 variáveis correspondentes ao intervalo de 380 nm à 485 nm.	178

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1 – Características botânicas e geográficas das amostras de mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) e de méis florais coletadas na região do planalto serrano de Santa Catarina.....	75
Tabela 2.2 – Teor de umidade e carboidratos em méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) e florais.....	82
Tabela 2.3 – Condutividade elétrica, acidez, pH, 5-hidroximetilfurfural e atividade diastásica das amostras de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) e florais.	88
Tabela 2.4 – Capacidade redutora de ferro (FRAP), Folin-Ciocalteu e desativação do radical DPPH das amostras de mel de melato de bracatinga e florais coletadas no planalto serrano catarinense.	94

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1 – Mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) (puro e comercial) e mel floral.	116
Tabela 3.2 - Mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) adulterado com mel floral.....	117

CAPÍTULO 4

Tabela 4.1 – Amostras de mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) e mel floral coletadas no planalto serrano catarinense.....	141
Tabela 4.2- Amostras de mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) adulterados com mel floral.	145
Tabela 4.3 – Análise colorimétrica de méis de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) puro e méis florais.	149
Tabela 4.4 – Análise colorimétrica de mel de melato de bracatinga adulterado com méis florais.	152
Tabela 4.5 – Matriz de classificação para o modelo de Árvore de Classificação Regressão - C&RT - proposto para a distinção de méis de melato de bracatinga, méis florais e méis de melato de bracatinga adulterado com mel floral.....	154

Tabela 4.6 - Análise colorimétrica de méis de melato de bracatinga e méis florais submetidos a tratamentos térmicos de 45°C por 48 horas..... 154

Tabela 4.7 - Análise colorimétrica de méis de melato de bracatinga e méis florais submetidos a tratamentos térmicos a 80°C por 4 minutos..... 156

CAPÍTULO 5

Tabela 5.1 – Descrição das amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) produzidas em Santa Catarina. 171

Tabela 5.2 – Descrição das amostras de méis de florais produzidas em Santa Catarina. 172

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HMF - 5-hidroximetilfurfural.

a* - intensidade do tom verde (para valores negativos) e tom vermelho (para valores positivos).

AAE – Ácido ascórbico equivalente.

AGE – Ácido gálico equivalente.

AO - ácidos orgânicos de baixa massa molar.

AOAC – Métodos Oficiais de Análise, do inglês “*Official Methods of Analysis*”.

b* - intensidade do tom azul (para valores negativos) e tom amarelo (para valores positivos).

BGE - eletrólito de corrida, do inglês “*background electrolyte*”.

C*_{ab} – Chroma.

CE - eletroforese capilar, do inglês “*capillary electrophoresis*”.

CTAB - brometo de cetiltrimetilamônio, do inglês “*cetyltrimethylammonium bromide*”.

C&RT - árvore de Classificação e Regressão, do inglês “*Classification and Regression Trees*”.

DAD - detector de arranjo de diodos, do inglês “*diode array detector*”.

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, do inglês “*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*”.

FC - Capacidade redutora de Folin-Ciocalteu.

FID - detector de ionização de chama, do inglês “*Flame Ionization Detector*”.

GC - cromatografia gasosa, do inglês “*gas chromatography*”.

*h*_{ab} – Ângulo de matiz.

HCA - análise hierárquica, do inglês “*hierarchical cluster analysis*”.

HPCE – eletroforese capilar de alta eficiência, do inglês “*high-performance capillary electrophoresis*”.

HPLC - cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês “*high performance liquid chromatography*”.

HS-SPME - microextração de fase sólida, do inglês “*headspace solid-phase microextraction*”.

L* - parâmetro de luminosidade.

LC - cromatografia líquida, do inglês “*liquid chromatography*”.

KNN - do inglês “*K-nearest neighbor*”.

MEKC - cromatografia eletrocinética micelar, do inglês “*micellar electrokinetic chromatography*”.

meq - miliequivalente.

OPLS-DA - análise discriminante de projeções ortogonais para estruturas latentes, do inglês “*orthogonal partial least square discriminant analysis*”.

OPLS-HCA - análise hierárquica de projeções ortogonais para estruturas latentes, do inglês “*orthogonal partial least square - hierarchical cluster analysis*”.

PAST - do inglês “*Paleontological Statistics*”.

PC – componente principal, do inglês “*principal component*”.

PCA - análise de componentes principais, do inglês “*principal component analysis*”.

PDMS - Polidimetilsiloxano, do inglês “*Polydimethylsiloxane*”.

pH - potencial hidrogeniônico.

qNMR - espectroscopia de ressonância magnética nuclear quantitativa, do inglês “*quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy*”.

RID - detector de índice de refração, do inglês “*refractive index detector*”.

RMN - espectroscopia de ressonância magnética nuclear, do inglês “*nuclear magnetic resonance*”.

SESCF - cromatografia de impressão por similaridade, do inglês “*similarity evaluation system for chromatographic fingerprint*”.

SDS - dodecilsulfato de sódio, do inglês “*sodium dodecyl sulfate*”.

STB - tetraborato dissódico decahidratado “*di-Sodium tetraborate decahydrate*”.

SIMCA - modelagem independente e flexível por analogia de classe, do inglês, “*soft independent modelling of class analogy*”.

TBS - tetraborato de sódio, do inglês “*sodium tetraborate*”.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	25
REFERÊNCIAS	27
CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
1 Mel de Melato de Bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham)	31
2 Melissopalinologia	37
3 Metabolômica de Alimentos, Impressão Cromatográfica / Espectrométrica e Marcadores de Autenticidade	39
3.1 Metabolômica de Alimentos	39
3.2 Impressão Cromatográfica/Espectrométrica em Alimentos	41
3.3 Análise Alvo: Marcadores de Identificação no mel	44
3.3.1 Composição do Mel	44
3.3.1.1 Açúcares	45
3.3.1.2 Minerais	47
3.3.1.3 Compostos voláteis	48
4 Legislação e Padrão de Identidade e Qualidade de Mel	49
4.1 Maturidade	50
4.2 Pureza	52
4.3 Deterioração	52
4.4 Outras características.....	53
REFERÊNCIAS	55
CAPÍTULO 2: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE MÉIS DE MELATO DE BRACATINGA (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) E FLORAIS PRODUZIDOS NO PLANALTO SERRANO DE SANTA CATARINA: UMA ABORDAGEM VOLTADA PARA A DIFERENCIAÇÃO DE MÉIS	69
RESUMO	71
1 INTRODUÇÃO	73
2 MATERIAIS E MÉTODOS	75
2.1 Amostras.....	75
2.2 Reagentes e soluções	76
2.3 Características Físico-Químicas	77
2.3.1 Umidade	77
2.3.2 Carboidratos	77
2.3.3 pH, Acidez Livre e Acidez Lactônica	78
2.3.4 Atividade Diastásica	78
2.3.5 Condutividade Elétrica	78
2.3.6 5-Hidroximetilfurfural	78

2.3.7 Capacidade de redução de ferro (FRAP), de Folin-Ciocalteu e de desativação do radical 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)	79
2.4 Análise Estatística	80
3 RESULTADOS	81
3.3 Maturidade do mel	81
3.4 Pureza e Deterioração do Mel	87
3.5 Capacidade redutora de ferro (FRAP), Folin-Ciocalteu e desativação do radical DPPH	93
3.4 Análise multivariada	96
4 CONCLUSÃO.....	101
REFERÊNCIAS.....	103

CAPÍTULO 3 – PERFIL DE MINERAIS MAJORITÁRIOS COMO UM PARÂMETRO POTENCIAL PARA VERIFICAÇÃO DE AUTENTICIDADE OU FRAUDE EM MÉIS DE MELATO DE BRACATINGA (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham)	109
RESUMO	111
1 INTRODUÇÃO	113
2 MATERIAIS E MÉTODOS	115
2.1 Amostras	115
2.2 Teor de minerais	120
2.3 Análise Quimiométrica	120
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	121
4 CONCLUSÃO	129
REFERÊNCIAS.....	131

CAPÍTULO 4 - CARACTERIZAÇÃO CROMÁTICA ASSOCIADA À ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA PARA DIFERENCIAÇÃO ENTRE MÉIS DE MELATO DE BRACATINGA (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham) E FLORAIS: UMA TÉCNICA SIMPLES, FÁCIL E DE BAIXO CUSTO	133
RESUMO	135
1 INTRODUÇÃO	137
2 MATERIAIS E MÉTODOS	141
2.1 Amostras	141
2.1.1 Mel de melato de bracatinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham)	142
2.1.2 Amostras de méis florais.....	144
2.1.3 Adulteração das amostras.....	144
2.2 Tratamento térmico aplicado às amostras	146
2.3 Análise cromática.....	147
2.4 Análise quimiométrica	147

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	149
4 CONCLUSÃO	159
REFERÊNCIAS	160

CAPÍTULO 5: CLASSIFICAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE MEL DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham) POR MEIO DO PERFIL ESPECTROFOTOMÉTRICO ASSOCIADO À ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

RESUMO	167
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	171
2.1 Amostras.....	171
2.1.1 Preparo das Amostras.....	172
2.2 Perfil Espectrofotométrico	173
2.3 Análise Quimiométrica.....	173
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	175
4 CONCLUSÃO	181

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	185
ANEXO A.....	187
ANEXO B.....	189

INTRODUÇÃO

O mel é um alimento doce composto por macro e micronutrientes que atribuem propriedades nutricionais e terapêuticas ao produto (KHALIL *et al.*, 2015; KATEEL *et al.*, 2018; BERGAMO *et al.*, 2018b). Os méis produzidos em maior abundância são oriundos da espécie *Apis mellifera* e são classificados de acordo com sua origem: floral ou melato (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEANCOMMISSION, 2002).

Enquanto que os méis de origem floral são produzidos a partir do néctar das flores, os méis de melato são caracterizados como um produto obtido a partir de secreções de plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEANCOMMISSION, 2002).

Os méis de melato são amplamente consumidos principalmente por consumidores europeus (SIMOVA *et al.*, 2012; PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017) e, é neste mercado que o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) ganhou destaque nos últimos anos. Este mel é produzido principalmente na região do planalto serrano do Estado de Santa Catarina, Brasil, com menor ocorrência nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná, sendo que quase toda a sua produção é exportada. Considerado um produto muito peculiar, é produzido apenas a cada dois anos, coincidentemente em anos pares, por abelhas da espécie *Apis mellifera* a partir de excreções açucaradas liberadas por insetos dos gêneros *Tachardiella* sp. e *Stigmococcus* sp. que se reproduzem nas árvores da bracatinga e utilizam seu floema como alimento (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015).

As características únicas do mel de melato de bracatinga associado à alta demanda pelo produto e preço de mercado, demonstram a importância de se verificar a autenticidade e a qualidade deste mel, uma vez que está sujeito a adulterações. Nesse contexto, torna-se importante avaliar e definir os principais parâmetros de identidade e qualidade físico-químicas dessa importante classe de mel, uma vez que existem poucos estudos publicados sobre esse assunto (CAMPOS *et al.*, 2000, 2003; MARIANO-DA-SILVA; MARIANO-DA-SILVA; COSTA-NETTO, 2011; SERAGLIO *et al.*, 2016, 2017, AZEVEDO *et al.*, 2017b, 2017a). Ainda, a identificação de possíveis marcadores de autenticidade é útil, uma vez que esse produto é susceptível a fraudes, principalmente pela adição de méis florais de baixo valor comercial, para aumentar o rendimento (BERGAMO *et al.*, 2018a).

Considerando o crescente consumo de mel de melato de bracatinga e a escassez de informações sobre a sua composição, bem como parâmetros que definam sua autenticidade e diferenciação de méis florais, este estudo teve como objetivo investigar as principais características físico-químicas de méis de melato de bracatinga e de méis florais produzidos no estado de Santa Catarina, Brasil, buscando parâmetros que diferenciem essas distintas classes de mel e possíveis adulterações ocasionadas por misturas entre méis de diferentes origens botânicas.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, M. S.; SERAGLIO, S. K. T.; ROCHA, G.; BALDERAS, C. B.; PIOVEZAN, M.; GONZAGA, L. V.; FALKENBERG, D. de B.; FETT, R.; DE OLIVEIRA, M. A. L.; COSTA, A. C. O. Free amino acid determination by GC-MS combined with a chemometric approach for geographical classification of bracinga honeydew honey (*Mimosa scabrella* Benth). **Food Control**, v. 78, p. 383–392, ago. 2017a.
- AZEVEDO, M. S.; VALENTIM-NETO, P. A.; SERAGLIO, S. K. T.; LUZ, C. F. P. da; ARISI, A. C. M.; COSTA, A. C. O. Proteome comparison for discrimination between honeydew and floral honeys from botanical specie *Mimosa scabrella* Benth by principal componet analysis. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 13, p. 4515–4519, 2017b.
- BERGAMO, G.; SERAGLIO, S. K. T.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Mineral profile as a potential parameter for verifying the authenticity of bracinga honeydew honeys. **LWT**, v. 97, p. 390–395, 17 jul. 2018a.
- BERGAMO, G.; SERAGLIO, S. K. T.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Physicochemical characteristics of bracinga honeydew honey and blossom honey produced in the state of Santa Catarina: An approach to honey differentiation. **Food Research International**, v. 116, p. 745–754, 8 set. 2018b.
- BRASIL. Instrução normativa n.11. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA**, 2000.
- CAMPOS, G.; DELLA-MODESTA, R. C.; SILVA, T. J. P.; BAPTISTA, K. E.; GOMIDES, M. F.; GODOY, R. L. Classificação do mel em floral ou mel de melato. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 1–5, abr. 2003.
- CAMPOS, G.; NAPPI, G. U.; RASLAN, D. S.; AUGUSTI, R. Substâncias voláteis em mel floral e mel de melato. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 1, p. 18–22, 2000.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Alimentarius Commission Standards. **Codex Stan 12-1981**, p. 1–8, 2001.
- EUROPEAN COMMISSION. European Commission. Council Directive 2001/110/EC. Relating to honey. Journal of European Communities, 47–52. **Official Journal of European Communities**, 2002.
- KATEEL, R.; BHAT, G.; BALIGA, S.; AUGUSTINE, A. J.; ULLAL, S.; ADHIKARI, P. Antibacterial action of Tropical honey on various bacteria obtained from diabetic foot ulcer. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 30, p. 29–32, 1 fev. 2018.
- KHALIL, M. I.; TANVIR, E. M.; AFROZ, R.; SULAIMAN, S. A.; GAN,

- S. H. Cardioprotective effects of Tualang Honey: amelioration of cholesterol and cardiac enzymes levels. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 286051, 3 maio 2015.
- MARIANO-DA-SILVA, F. M. de S.; MARIANO-DA-SILVA, S.; COSTA-NETTO, A. P. da. Aplicação do índice de Kirkwood para diferenciar mel floral e de melato oriundos do município de Bom Retiro (SC). **Revista Agrarian**, v. 4, n. 13, p. 244–250, 2011.
- MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. **Bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham): cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis: Epagri, 365p., 2014.
- PITA-CALVO, C.; VÁZQUEZ, M. Differences between honeydew and blossom honeys: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 79–87, jan. 2017.
- SERAGLIO, S. K. T.; VALESE, A. C.; DAGUER, H.; BERGAMO, G.; AZEVEDO, M. S.; NEHRING, P.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds, minerals, and antioxidant capacity of *Mimosa scabrella* Bentham honeydew honeys. **Food Research International**, v. 99, p. 670–678, 2017.
- SERAGLIO, S. K. T.; VALESE, A. C.; DAGUER, H.; BERGAMO, G.; AZEVEDO, M. S.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Development and validation of a LC-ESI-MS/MS method for the determination of phenolic compounds in honeydew honeys with the diluted-and-shoot approach. **Food Research International**, v. 87, p. 60–67, 2016.
- SIMOVA, S.; ATANASSOV, A.; SHISHINIOVA, M.; BANKOVA, V. A rapid differentiation between oak honeydew honey and nectar and other honeydew honeys by NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1706–10, 1 out. 2012.
- WOLFF, V. R. dos S.; WITTER, S.; LISBOA, B. B. Reporte de *Stigmacoccus paranaensis* Foldi (Hemiptera, Stigmacoccidae), insecto escama asociado con la producción de miel de melato en Rio Grande do Sul, Brasil. **Insecta Mundi**, n. 434, p. 1–7, 2015.

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esse capítulo foi baseado no artigo intitulado como “*An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey*”, publicado na Revista “*Food Research International*”. ISSN: 0963.9969.

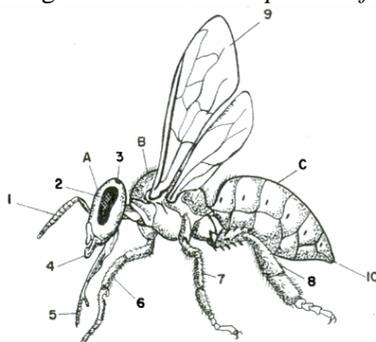
CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 Mel de Melato de Bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham)

As abelhas pertencem ao filo *Arthropoda*, classe *Insecta*, subclasse *Pterygota*, ordem *Hymenoptera*, subordem *Apócrita*, superfamília *Apoidea* e família *Apidae*. A família *Apidae* possui duas subfamílias: *Apinae* – possuem ferrão (abelhas do gênero *Bombus* e *Apis*) e *Meliponinae* – não possuem ferrão (ITAGIBA, 1997). Estima-se que existam mais de 16 mil espécies distintas de abelhas (RECH *et al.*, 2014).

A espécie *Apis mellifera* (Figura 1.1), é oriunda do continente europeu e foi introduzida no Brasil no século XIX. Nesse período, diversas espécies e subespécies foram trazidas para o país como a *Apis mellifera ligustica* (Itália), *Apis mellifera mellifera* (Alemanha) e *Apis mellifera carnica* (Áustria). Devido à dificuldade de adaptação com o clima e a baixa produtividade, em 1956 a subespécie *Apis mellifera scutellata* foi trazida do continente africano por acreditar-se que se adaptaria mais facilmente às condições climáticas. No entanto, essas abelhas acabaram cruzando com as outras espécies já existentes formando novas populações poli-híbridas, passando posteriormente a serem reconhecidas como africanizadas (OLIVEIRA; CUNHA, 2005). Atualmente a *Apis mellifera*, também conhecida como abelha africanizada e abelha melífera (RECH *et al.*, 2014), é considerada como a espécie dominante no Brasil e representa a maior percentagem responsável pela produção de mel (MANTILLA *et al.*, 2012).

Figura 1.1 – Abelha *Apis mellifera*



- A- cabeça
- B- tórax
- C- abdome
- 1- antenas
- 2- olhos
- 3- ocelos
- 4- mandíbulas
- 5- língua
- 6- pata anterior
- 7- pata mediana
- 8- pata posterior
- 9- asas
- 10- ferrão

Fonte: Itagiba (1997).

As abelhas se alimentam principalmente de recursos florais utilizando como fonte de energia o néctar e como fonte de proteínas o pólen (MARCHINI; REIS; MORETI, 2006; COELHO *et al.*, 2008). Esse processo contribui com a polinização de plantas (Figura 1.2), fator fundamental para o desenvolvimento de frutas e vagens, exercendo um papel fundamental para os ecossistemas e manutenção da biodiversidade (CHIARI *et al.*, 2008; YOON *et al.*, 2015).

Figura 1.2 – Abelha *Apis mellifera* polinizando flor de cajueiro - *Anacardium occidentale* (esquerda) e flor de macieira - *Malus domestica* (direita).



Fonte: Rech *et al.* (2014).

No Brasil muitas culturas são beneficiadas com a polinização realizada pelas abelhas, tais como maçã, laranja, melão e a canola (RECH *et al.*, 2014). Quando a polinização ocorre de forma adequada, promove o aumento da produtividade de pomares além da obtenção de frutos e sementes de melhor qualidade quando comparado a frutos e sementes não polinizadas (OLIVEIRA; SOUZA; FREITAS, 2012; MALERBO-SOUZA; HALAK, 2013 GAINES-DAY; GRATTON, 2016).

O mel é produzido pelas abelhas a partir do néctar coletado de flores ou das secreções de plantas e de excreções alguns insetos que se alimentam do floema de árvores (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002). Ao transportar essas substâncias para a colmeia, as abelhas adicionam vários componentes, dentre eles enzimas, que são secretadas principalmente pelas suas glândulas hipofaríngeas. Essas enzimas atuam catalisando reações bioquímicas e promovem a drástica redução de água contida no néctar ou nas secreções de plantas e excreções de

insetos (SERGIEL *et al.*, 2014). No interior da colônia o mel é armazenado nos alvéolos para maturação, ficando disponível para a alimentação da colmeia. Ao final de todo o processo, o produto passa a ser constituído de substâncias derivadas das plantas, das abelhas e das reações bioquímicas que ocorrem durante o processo de maturação e, dessa forma, sua composição está fortemente associada à origem botânica e geográfica (IGLESIAS *et al.*, 2004; PYRZYNSKA; BIESAGA, 2009; RIZELIO *et al.*, 2012).

Geralmente as abelhas coletam o néctar de flores como matéria prima, porém, havendo escassez dessa fonte outras são utilizadas. A partir do néctar as abelhas elaboram o mel floral que pode ser: (i) unifloral, quando a maior parte do néctar provém de um único tipo de espécie vegetal; (ii) polifloral, quando o néctar é oriundo de várias espécies vegetais; e (iii) silvestre, a partir do néctar obtido de espécies vegetais nativas (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; MOREIRA; MARIA, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002). Enquanto que os méis florais derivam do néctar das plantas com flores, o mel de melato é obtido a partir da secreção de plantas, de frutas e de outras fontes de matéria prima, tais como a excreção sacarínica de afídeos (insetos artrópodes, da ordem *Homoptera* que se alimentam do floema de plantas). Essas secreções e excreções também são relatadas na literatura como “*honeydew*” (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; NI *et al.*, 2016).

Além de apresentar coloração mais escura, o mel de melato possui valores mais elevados de pH, acidez, oligossacarídeos, minerais, cinzas e material nitrogenado e, menores valores de glicose e frutose, quando comparado ao mel floral (CASTRO-VÁZQUEZ *et al.*, 2009; BERGAMO *et al.*, 2018a, 2018b). Comumente apresentam maiores teores do dissacarídeo trealose e do oligossacarídeo melezitose (FISCHER *et al.*, 2002; ESCUREDO *et al.*, 2013, 2014; CAN *et al.*, 2015; FECHNER *et al.*, 2016).

Consumido e apreciado mundialmente, o mel de melato é peculiar de cada região, uma vez que suas características estão diretamente relacionadas à planta predominante do local e da espécie do inseto sugador da seiva, que dará origem a excreções, utilizadas pelas abelhas. Na Grécia e na Turquia, por exemplo, as excreções são provenientes principalmente do mutualismo entre o inseto *Marchalina hellenica* e árvores da espécie *Pinus* spp.; nos Estados Unidos é proveniente do inseto *Xylococcus macrocarpa* que se alimenta da seiva de *Calocedrus decurrens*; enquanto que no México o mutualismo

ocorre entre o inseto *Stigmacoccus garmilleri* e a árvore *Quercus* spp. e na Nova Zelândia, as excreções são oriundas do inseto *Ultracoelostoma assimile* que se alimenta da seiva da planta *Nothofagus* (WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015).

No Brasil, com maior predominância no Estado de Santa Catarina, se estendendo do Planalto Sul ao Planalto Norte (seguindo por uma faixa central do Estado) e em pequenas áreas no Rio Grande do Sul e no Paraná existe a ocorrência do mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham). A bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) (Figura 1.3) é uma árvore perenifólia e mantém suas folhas durante todo o ano ocorrendo em regiões de clima frio, altitudes acima de 700 metros e temperaturas médias anuais de 13 °C a 18,5 °C (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014).

Figura 1.3 – Árvore bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham).



Fonte: Mazuchowski *et al.* (2014).

Muitos insetos se alimentam do floema da bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), como a cochonilha, um tipo de hemíptero, sendo as espécies do gênero *Tachardiella* sp. (Figura 1.4) e *Stigmacoccus* sp. as mais comuns. As excreções desses insetos são açucaradas, atraindo algumas espécies de pássaros e de outros insetos que utilizam essa substância em sua própria alimentação (Figura 1.5). Em épocas de escassez de néctar, muitas abelhas utilizam esse recurso para produção de mel (Figura 1.6), originando um produto peculiar: o mel de melato de bracatinga (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015).

Figura 1.4 – Cochonilha (*Tachardiella* sp.; Homoptera: Lacifferidae) (esquerda). Cochonilha (espécie não definida) liberando excreções (direita).



Fonte: Mazuchowski *et al.* (2014); arquivo pessoal da Prof. Dr^a. Ana Carolina de Oliveira Costa (2018).

Figura 1.5 – Excreções produzidas por cochonilhas em árvores de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham).



Fonte: Arquivo pessoal da Prof. Dr^a. Ana Carolina de Oliveira Costa (2018).

Figura 1.6 – Abelha coletando secreções sacarínicas da cochonilha presentes na bracatinga (*Mimosa scabrella* Benthham).



Fonte: Damiani (2003), arquivo pessoal da Prof. Dr.^a Ana Carolina de Oliveira Costa (2018).

Esses insetos, por sua vez, povoam o caule da bracatinga comumente entre os meses de março a julho e, apenas a cada dois anos, coincidindo em anos pares, período que corresponde ao seu ciclo de vida (CAMPOS *et al.*, 2003; MARIANO DA SILVA; MARIANO DA SILVA; COSTA NETTO, 2011; SAKR; DALLABRIDA, 2015; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015). As excreções desses insetos, portanto, é produzido por um curto período, motivo pelo qual esse mel é encontrado no mercado em épocas e anos específicos, o que o torna um produto ainda mais peculiar.

O mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) tem grande aceitação no mercado externo sendo que quase toda a produção é exportada, principalmente para países da Europa. No mercado interno, o produto ainda é pouco valorizado, não tendo grande aceitabilidade por parte dos consumidores, que muitas vezes até desconhecem a origem do produto optando geralmente pela aquisição de méis provenientes de néctar (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), o Brasil produziu cerca de 39,59 mil toneladas de mel no ano de 2016, cerca de 5,1% a mais em relação ao ano de 2015. Ainda, o valor da produção aumentou 31,5% em relação ao mesmo ano, impulsionado pelo aumento da demanda e pela valorização do mel como um produto saudável. Com relação às exportações, cerca de 24,20 mil toneladas foram exportadas principalmente para a Alemanha, Canadá, Estados Unidos e Reino Unido (ABEMEL, 2018). Até o momento, não existem dados na literatura com informações sobre produção e exportação do mel de melato de bracatinga. Salienta-se também que os dados mais recentes sobre esse tema são relatados do ano de 2016.

2 Melissopalinologia

O pólen não é aproveitado pela abelha como matéria prima para fabricação do mel, contudo, é utilizado na alimentação das abelhas como principal fonte de proteínas, especialmente na fase larval (MARCHINI; REIS; MORETI, 2006; COELHO *et al.*, 2008; NOVAIS; LIMA; SANTOS, 2010). O pólen presente no mel é considerado, de certo modo, como uma contaminação, pois sua adição no produto ocorre de modo involuntário, possivelmente devido a alguns fatores: (i) a abelhaingere o pólen involuntariamente junto com o néctar, sendo posteriormente regurgitado nos favos; (ii) grande parte do pólen fica aderido ao corpo do inseto, que o transporta até a colmeia onde se

mistura ao mel; (iii) o pólen fica disperso no ar atmosférico, podendo entrar na colmeia ou aderir ao corpo das abelhas durante o voo; (iv) contaminação dentro da colmeia; (v) contaminação no processamento do produto (ANKLAM, 1998; SORIA *et al.*, 2004; CORVUCCI *et al.*, 2015).

Como uma maneira de identificar o pólen presente no mel e definir uma possível origem botânica, Louveaux, Maurizio e Vorwohl (1978) desenvolveram na década de 70 um método de análise palinológica, também conhecida como melissopalínologia, sendo utilizado e reconhecido até hoje como principal método para análise botânica de mel. O método baseia-se na identificação do pólen por meio de exame microscópico, o qual é observado na amostra e comparado com diferentes tipos de pólen já identificados e descritos na literatura.

Após a identificação dos diferentes tipos de pólen contidos na amostra, os mesmos são quantificados a fim de que seja realizada a classificação do mel em monofloral ou polifloral. Para ser considerado como monofloral, o mel deve apresentar geralmente o mínimo de 45% do teor total de pólen ao qual foi relacionado. No entanto, o néctar de algumas flores possui naturalmente maior ou menor quantidade de pólen, e nesses casos a percentagem mínima de grãos pode variar. Por exemplo, méis de castanha monoflorais devem apresentar no mínimo 90% do teor total de pólen de castanha enquanto que méis de citrus monoflorais necessitam apresentar apenas entre 10% a 20% desse tipo de pólen (LOUVEAUX; MAURIZIO; VORWOHL, 1978; ANKLAM, 1998; CONTI *et al.*, 2007).

Em méis de melato, também pode haver presença de pólen, devido aos fatores já mencionados, e nesse caso, o estudo melissopalínológico observa substâncias oriundas das secreções das plantas e excreções de insetos que supostamente foram utilizados pela abelha na produção do mel, como micro-algas, fungos e esporos, geralmente na proporção superior a três partes desses elementos para uma parte de pólen (LOUVEAUX; MAURIZIO; VORWOHL, 1978; SORIA *et al.*, 2004).

No entanto, o método até hoje utilizado como referência, apresenta algumas desvantagens, entre as quais destacam-se a exigência de analistas treinados que precisam de rigorosa atenção na contagem, identificação e interpretação dos dados, além do prévio conhecimento da morfologia do pólen (GONZÁLEZ-PARAMÁS *et al.*, 2000; SORIA *et al.*, 2004; DOWNEY *et al.*, 2005; ALDA-GARCILOPE *et al.*, 2012; OROIAN; ROPCIUC, 2017; OROIAN *et al.*, 2017). Além disso, a

inclusão de pólen oriundo do ambiente pode não ser condizente com a fonte de néctar, a produção de pólen pela planta é variável sendo influenciada pela época do ano, e o pólen ainda pode ser adicionado no mel de forma fraudulenta (ANKLAM, 1998; CORVUCCI *et al.*, 2015).

Visando minimizar essas dificuldades, estudos físico-químicos passaram a ser utilizados como forma de complementar a análise melissopalínológica e assim aperfeiçoar e assegurar a correta classificação dos méis. Nesse contexto, parâmetros físico-químicos associados à análise estatística multivariada vêm sendo utilizados na diferenciação de méis florais e de melato (POPEK, 2002; AMIRY; ESMAILI; ALIZADEH, 2017; OROIAN; ROPCIUC, 2017; POPEK; HALAGARDA; KURSA, 2017; OROIAN *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2018; BERGAMO *et al.*, 2018b) e, recentemente, a metabolômica de alimentos tem sido utilizada como forma de identificar possíveis marcadores de autenticidade (MADEJCZYK; BARALKIEWICZ, 2008; SIMOVA *et al.*, 2012; CASTRO-VÁZQUEZ *et al.*, 2014; BERGAMO *et al.*, 2018a) bem como o perfil cromatográfico (ALIFERIS *et al.*, 2010; KUŚ; VAN RUTH, 2015) dos diferentes tipos de mel.

3 Metabolômica de Alimentos, Impressão Cromatográfica / Espectrométrica e Marcadores de Autenticidade

3.1 Metabolômica de Alimentos

Metabolômica (do inglês “*Metabolomics*”) é a ciência interdisciplinar que envolve a caracterização de metabólitos de baixa massa molar (<1500 Da) em uma matriz alvo a partir de tecnologias analíticas sofisticadas, combinadas com métodos estatísticos multivariados (IBÁÑEZ *et al.*, 2013; PUTRI *et al.*, 2013; CUADROS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2016). Este estudo tem sido aplicado nos últimos anos em várias áreas, incluindo ciências médicas: a fim de detectar o início de algumas doenças como câncer, arteriosclerose e hipertensão (TEUL *et al.*, 2009; STRUCK-LEWICKA *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2015a); botânica: na identificação de plantas (ARCEUSZ; WESOŁOWSKI, 2013); e de alimentos, na autenticação e identificação de fraudes (SON *et al.*, 2008; JUMHAWAN *et al.*, 2015; KUŚ; VAN RUTH, 2015; MIAO *et al.*, 2015).

O segmento da metabolômica que estuda sua aplicação em alimentos é conhecido como “metabolômica de alimentos” (do inglês, “*food metabolomics*”) (KIM *et al.*, 2016) ou “foodômica” (do inglês,

“foodomics”) (CIFUENTES, 2009; IBÁÑEZ *et al.*, 2013; CUADROS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2016) e surgiu principalmente para suprir a necessidade de garantir a segurança alimentar, a qualidade e a rastreabilidade de alimentos através de métodos analíticos eficientes e de baixo custo (CASTRO-PUYANA; HERRERO, 2013).

A qualidade dos alimentos envolve vários atributos que também se tornam essenciais para a aceitação do consumidor como composição, aroma e sabor. Além da aceitação, essas características podem agregar valor ao produto e, visando maior lucro, alguns alimentos tornam-se susceptíveis a fraudes. Dentre os alimentos susceptíveis a fraudes, citam-se o café (JUMHAWAN *et al.*, 2015), azeite de oliva (BAJOUB *et al.*, 2017), óleo vegetal (TAN *et al.*, 2017) e frutas, tais como arando (do inglês “cranberry” - *Vaccinium macrocarpon*) (PARDO *et al.*, 2016). Para o mel, em especial, a origem botânica é o principal fator de aceitação sendo determinante para o valor do produto e por isso fraudes envolvendo misturas com floradas distintas e até mesmo com mel artificial vem se tornando uma prática usual (JANDRIĆ *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2015b).

A análise metabolômica de alimentos é complexa devido à grande variedade de compostos químicos presentes nas matrizes alimentares, tais como açúcares, compostos fenólicos, aminoácidos, ácidos orgânicos, entre outros. Diante disso, foram criadas algumas estratégias para facilitar esse estudo como a análise alvo (do inglês “target analysis”), que tem por objetivo identificar e/ou quantificar os analitos de interesse, também chamados de marcadores químicos (do inglês “chemical markers”) ou marcadores de identificação ou de autenticidade (CASTRO-VÁZQUEZ *et al.*, 2014; GAŠIĆ *et al.*, 2015); o perfil metabólico (do inglês “metabolic profiling”), que envolve a caracterização de um grupo de metabólitos relacionados entre si ou de uma via metabólica específica e a impressão digital (do inglês “fingerprint”) (CASTRO-PUYANA; HERRERO, 2013), impressão metabólica (do inglês “metabolic fingerprinting”) (GARCÍA-CAÑAS *et al.*, 2010; IBÁÑEZ *et al.*, 2013), e recentemente também mencionada como impressão cromatográfica (do inglês “chromatographic fingerprinting”) (CUADROS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2016) e impressão espectrométrica (do inglês “spectrometric fingerprinting”) (URBANO *et al.*, 2006; SOUTO *et al.*, 2010; SÂRBU *et al.*, 2012; PIZARRO *et al.*, 2013) que tem por finalidade comparar padrões de metabólitos entre as amostras por meio da detecção de marcadores de identificação peculiares, como cromatogramas/espectros, sem necessariamente

identificar ou quantificar esses metabólitos. A impressão, seja ela metabólica, cromatográfica ou espectrométrica, juntamente com a análise estatística multivariada dos dados, pode indicar diferenças significativas entre amostras, permitindo assim estabelecer padrões específicos para determinados grupos de alimentos (CASTRO-PUYANA; HERRERO, 2013). Por se tratar de uma ciência recente, termos distintos são utilizados para a mesma finalidade como relata Cuadros-Rodríguez *et al.* (2016) em sua revisão sobre o tema, podendo, no entanto, levar a alguns equívocos. No decorrer da revisão bibliográfica desse trabalho, serão utilizados os termos tal qual estão descritos nos artigos supracitados, mesmo que os mesmos tenham significado científico equivalente.

3.2 Impressão Cromatográfica/Espectrométrica em Alimentos

O preparo da amostra para os experimentos relacionados à detecção de impressões cromatográficas é muito importante uma vez que alguns tratamentos (prévios às análises) podem interferir nos metabólitos, os quais podem não ser detectados (devido à perda durante o preparo) ou transformados em outros compostos. Dessa forma, quanto menor forem as modificações sofridas pelo alimento antes da análise, mais reais e confiáveis serão os resultados obtidos (CASTRO-PUYANA; HERRERO, 2013; BOJKO *et al.*, 2014).

Dentre os métodos utilizados para detecção de impressões cromatográficas/espectrométricas, destacam-se as técnicas vibracionais espectroscópicas (do inglês “*vibrational spectroscopic techniques*”), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN do inglês “*nuclear magnetic resonance*”) (CUBERO-LEON; PEÑALVER; MAQUET, 2014) e técnicas de separação cromatográficas, tais como cromatografia gasosa (GC, do inglês “*gas chromatography*”) (ALIFERIS *et al.*, 2010; JUMHAWAN *et al.*, 2015; MIAO *et al.*, 2015) cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês “*High performance liquid chromatography*”) (KUŚ; VAN RUTH, 2015), eletroforese capilar (CE, do inglês “*capillary electrophoresis*”) (HAN *et al.*, 2012) e espectrofotometria UV/VIS (URBANO *et al.*, 2006; SOUTO *et al.*, 2010; SÁRBU *et al.*, 2012; PIZARRO *et al.*, 2013).

A partir da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD, do inglês “*High performance liquid chromatography with diode array detector*”) aliado a análise de componentes principais (PCA – do inglês “*principal*

component analysis”) e de algoritmos baseados na regra do vizinho mais próximo (KNN, do inglês “*K-nearest neighbor*”), Kuś e Van Ruth (2015), diferenciaram 62 amostras de origem floral da Polônia de seis variedades distintas: *Brassica napus* L. var *oleifera* Metzger, *Fagopyrum esculentum* Moench, *Calluna vulgaris* (L.) casco, *Centaurea cyanus* L., *Robinia pseudoacacia* L. e *Tilia* spp. Os autores concluíram que os modelos quimiométricos fundamentados em impressões cromatográficas utilizando HPLC-DAD propostos no estudo, podem ser utilizados como padrão universal na classificação de méis florais.

Para identificação de impressões cromatográficas de méis uniflorais gregos a cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas (GC-MS, do inglês “*gas chromatography – mass spectrometry*”) foi utilizada em 77 amostras de sete origens diferentes (*Castanea sativa*, *Gossypium hirsutum*, *Abies* spp., *Erica manipuliflora*, *Pinus* spp., *Corydanthus capitatus* e *Citrus* spp.) (ALIFERIS *et al.*, 2010). Os compostos voláteis foram extraídos por meio de microextração em fase sólida no modo “*headspace*” (HS-SPME, do inglês “*headspace solid-phase microextraction*”), seguida por GC-MS. A análise estatística dos dados foi realizada por meio de PCA, análise discriminante de projeções ortogonais para estruturas latentes (OPLS-DA, do inglês “*orthogonal partial least square discriminant analysis*”), análise hierárquica de projeções ortogonais para estruturas latentes (OPLS-HCA, do inglês “*orthogonal partial least square - hierarchical cluster analysis*”) e modelagem independente e flexível por analogia de classe (SIMCA, do inglês, “*soft independent modelling of class analogy*”). Os resultados demonstraram que as impressões obtidas a partir da técnica HS-SPME-GC-MS combinada com a análise estatística OPLS-HCA foram capazes de separar corretamente 98% dos méis, e, portanto, podem ser utilizadas na discriminação e classificação de amostras de mel com base em sua origem botânica.

Miao *et al.* (2015) definiram a impressão cromatográfica do óleo de *Alpinia oxyphylla* a partir de cromatografia gasosa acoplada ao detector por ionização de chama (CG-FID, do inglês “*gas chromatography -Flame Ionization Detector*”) associada às análises estatísticas de PCA e agrupamentos hierárquicos (HCA, do inglês “*hierarchical cluster analysis*”), além de um programa estatístico bastante específico, conhecido como sistema de avaliação para cromatografia de impressão por similaridade (SESCF, do inglês “*Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint*”). Ao

todo, 40 amostras coletadas em diferentes anos e em diferentes locais da China foram utilizadas e o preparo anterior à análise consistiu na simples diluição em acetronitrila (concentração de $25\mu\text{L mL}^{-1}$). O método, que também permite a identificação de compostos voláteis, conseguiu identificar, através da impressão cromatográfica associada às análises estatísticas PCA e HCA, o tempo de colheita e a origem geográfica da amostra, informações importantes para determinar a qualidade e agregar valor ao produto.

Jumhawan *et al.* (2015) utilizaram GC-FID aliado a análise estatística multivariada (PCA e OPLS-DA) para identificar a impressão cromatográfica do café Kopi Luwak indonésio, produzido a partir de fezes do mamífero *Paradoxurus hermaphroditus*, que se encontra entre as variedades mais caras do mundo. Um total de 37 amostras comerciais e não comerciais foram avaliadas, entre as quais café comum, Kopi Luwak e misturas de café comum com Kopi Luwak (50%, v/v), sendo submetidas a extração e derivatização antes da análise. Os autores concluíram que a técnica é efetiva para a distinção dos cafés e das misturas, sendo muito útil e reprodutível, podendo ser facilmente utilizado em escala industrial. Também ressaltam que já existem métodos que apresentam boa reprodutibilidade para discriminação de cafés por meio de GC-MS, porém, devido ao valor elevado para a realização das análises, torna-se importante desenvolver métodos que aliem eficiência e baixo custo.

Ainda com relação à classificação de café, a espectroscopia UV-Vis associada com a análise estatística discriminante linear – LDA (do inglês “*linear discriminant analysis*”) foi utilizada com sucesso na identificação e separação de cafés contendo ou não cafeína e cafés dentro e fora do prazo de validade (SOUTO *et al.*, 2010).

Um estudo envolvendo eletroforese capilar de alta eficiência (HPCE, do inglês “*high-performance capillary electrophoresis*”) (HAN *et al.*, 2012) definiu a impressão de dez amostras de pólen da variedade Typhae e de quatro amostras de produtos derivados dessa mesma variedade de pólen, obtidos de diversas regiões da China. Os dados foram avaliados pelo programa SESCOF e os autores observaram boa similaridade entre as impressões obtidas a partir das condições eletroforéticas definidas, e concluíram que, o método estabelecido, foi capaz de identificar tanto o pólen da variedade Typhae quanto os produtos obtidos a partir dessa matéria prima.

Como foi possível observar por meio dos trabalhos apresentados, a definição das impressões cromatográficas/ espectrométricas de

alimentos está sempre associada à análise estatística multivariada. Dentre as principais ferramentas utilizadas, destacam-se a análise de cluster (CA, do inglês “*cluster analysis*”) (SÂRBU *et al.*, 2012), PCA (URBANO, *et al.*, 2006; CHEN *et al.*, 2008; CASTRO-PUYANA; HERRERO, 2013; SÂRBU *et al.*, 2012; WORLEY; POWERS, 2013; KUŚ; VAN RUTH, 2015), OPLS-DA e OPLS-HCA (ALIFERIS *et al.*, 2010; JANDRIĆ *et al.*, 2015; JUMHAWAN *et al.*, 2015) KNN (KUŚ; VAN RUTH, 2015), análise discriminante linear (do inglês “*linear discriminant analysis*”) (SOUTO, *et al.*, 2010; SÂRBU *et al.*, 2012; PIZARRO *et al.*, 2013), entre outros. Cabe ressaltar que a PCA é uma das mais importantes ferramentas de análise estatística multivariada (LYRA *et al.*, 2010; SÂRBU *et al.*, 2012), sendo utilizada em vários estudos de impressão cromatográfica/ espectrométrica por se tratar de um método que proporciona uma determinação visual da similaridade entre as amostras tornando assim a interpretação dos dados rápida e fácil (MIAO *et al.*, 2015).

3.3 Análise Alvo: Marcadores de Identificação no mel

A análise alvo por sua vez, fundamenta-se na identificação e quantificação de analitos que possibilitem principalmente a autenticação e discriminação das amostras investigadas, seja a partir da origem geográfica ou pela botânica (CASTRO-VÁZQUEZ *et al.*, 2014; GAŠIĆ *et al.*, 2015). Para tanto, primeiramente é necessário conhecer os compostos da amostra, principalmente a partir de resultados já publicados, para somente então idealizar métodos que avaliem possíveis marcadores de autenticidade ou distinção entre amostras.

3.3.1 Composição do Mel

Quimicamente, o mel é uma solução complexa de açúcares e sua composição é influenciada diretamente pela espécie da planta a partir da qual o néctar ou o floema foi coletado, pelas condições ambientais e pelos fatores climáticos da região geográfica (PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008; PYRZYNSKA; BIESAGA, 2009) e, por essa razão, méis de mesma fonte podem apresentar composições distintas.

3.3.1.1 Açúcares

O mel é constituído basicamente dos monossacarídeos simples glicose e frutose sendo que sua proporção é fortemente influenciada pela fonte do néctar ou do floema a partir do qual foi produzido, representando, comumente, aproximadamente 75% do total de açúcares (KAMAL; KLEIN, 2011). Além desses, podem ser encontradas menores concentrações de dissacarídeos e oligossacarídeos (NAYIK; DAR; NANDA, 2015), os quais vêm sendo amplamente estudados como possíveis marcadores de origem botânica (OUCHEMOUKH *et al.*, 2010; KASKONIENE *et al.*, 2010; MANZANARES *et al.*, 2011; DE LA FUENTE *et al.*, 2011; CAN *et al.*, 2015). A composição de açúcares no mel de melato pode variar de acordo com a espécie de afídeo responsável pela excreção da substância e a espécie de planta da qual se alimenta (NI *et al.*, 2016) sendo que esse tipo de mel normalmente contém menores teores de monossacarídeos e maiores teores de dissacarídeos e oligossacarídeos, quando comparados aos méis oriundos do néctar das flores (DIEZ *et al.*, 2004; MANZANARES *et al.*, 2011; KAŠKONIENĖ *et al.*, 2010; ESCUREDO *et al.*, 2013).

Buscando verificar a relação entre a origem floral e a quantidade de carboidratos, Kaškonienė *et al.* (2010) avaliaram 26 méis de néctar, monoflorais e pluriflorais, provenientes da Lituânia por meio de GC-FID. A glicose foi o principal monossacarídeo detectado, variando entre 352 mg g⁻¹ a 426 mg g⁻¹, seguido da frutose, que variou de 329 mg g⁻¹ a 346 mg g⁻¹. O estudo também determinou sete tipos de dissacarídeos (maltose, sacarose, turanose, trealose, palationose, celobiose e isomaltose) sendo a maltose a mais abundante, com concentrações variando entre 5,0 mg g⁻¹ a 26,4 mg g⁻¹. Entre os oligossacarídeos, foram quantificados valores máximos de rafinose e panose de 2,4 mg g⁻¹ e 2,0 mg g⁻¹, respectivamente. Diferentemente do que os autores esperavam, a análise estatística demonstrou baixa correlação entre a origem botânica e os tipos e teores dos carboidratos investigados, não sendo possível determinar a origem botânica do mel apenas com base na determinação dos açúcares.

Manzanares *et al.* (2011) avaliaram o perfil dos açúcares frutose, glicose, sacarose, maltose, isomaltose, trealose, turanose e melezitose em 77 méis, sendo 53 de origem floral e 24 de melato, utilizando HPLC equipado com um detector de índice de refração diferencial (RID, do inglês “*refractive index detector*”) e constataram maiores teores de frutose, maltose, trealose e isomaltose quando comparados às

concentrações de glicose, sacarose, turanose e melezitose nos méis de melato avaliados. Os autores concluíram que, aliado à análise estatística multivariada, o perfil de açúcares pode ser um marcador de diferenciação entre méis de origem floral e de melato, diferentemente dos achados de Kaškonienė *et al.* (2010).

De La Fuente *et al.* (2011), avaliaram 108 méis uniflorais e multiflorais de néctar coletados na Espanha identificados por GC-MS. Os autores encontraram maiores concentrações do monossacarídeo frutose, seguido pela glicose, com valores médios de 371 mg g⁻¹ e 300 mg g⁻¹, respectivamente. Os principais dissacarídeos encontrados foram a turanose, maltulose, isomaltose, maltose, kojibiose e trealulose, porém, apresentaram ampla variabilidade nas concentrações determinadas. Os oligossacarídeos encontrados na maioria das amostras foram erlose, rafinose, 1-cestose e melezitose que também apresentaram diferenças de concentração dentro da mesma origem botânica. Os autores ressaltam que alguns açúcares podem indicar a possível origem botânica como a teanderose e panose em méis de alecrim, a 6-kestose para méis de *Rosaceae*, a sacarose para méis de citrus e rafinose e 1-kestose para méis de urze, porém, não pode ser considerada como o único tipo de classificação porque alguns méis podem ser classificados incorretamente.

Ao ser explorada a composição de carboidratos com finalidade de identificação de origem botânica, deve ser ressaltado que, além da influência da fonte do néctar, muitos dissacarídeos e oligossacarídeos são oriundos da ação de várias enzimas, e estas reações continuam ocorrendo durante o armazenamento do produto podendo acarretar em uma variabilidade adicional da composição (DE LA FUENTE *et al.*, 2011). Portanto, a indicação de hidratos de carbono, como marcadores de diferenciação de origem botânica ainda requer estudos que vislumbrem compostos característicos de um determinado tipo de mel.

Outros compostos como o quercitol, um ciclitol derivado do ciclo-hexano, comumente estudado com o grupo dos carboidratos (ANGYAL, 2014) vem sendo avaliado como possível marcador de diferenciação entre méis florais e de melato. Sanz *et al.* (2005) avaliaram 30 amostras de mel, sendo 13 de origem floral e 17 de melato, provenientes de países do continente europeu. A partir da análise utilizando GC-FID, os autores observaram que o quercitol estava presente em todos os méis cuja principal fonte era melato obtido de *Quercus* sp., popularmente conhecido como carvalho. Dessa forma, foi concluído que essa molécula pode ser considerada como um marcador

específico de mel de melato de *Quercus* sp., sendo possível diferenciá-lo dos méis de néctar por meio desse parâmetro. Simova *et al.* (2012) avaliaram méis obtidos em diferentes países da Europa (sete méis de néctar, 15 méis de melato de carvalho e dois méis de melato de outras fontes) utilizando espectroscopia de ressonância magnética nuclear quantitativa (qNMR, do inglês “*quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy*”). Foi observado que somente as amostras de mel de melato de carvalho apresentaram em sua composição a molécula de *proto-quercitol*, concluindo-se assim que esse ciclitol pode ser considerado um marcador na diferenciação de méis de melato de carvalho produzidos na Europa e essa característica exclusiva o diferencia de qualquer outro tipo de mel de néctar e de méis de melato provenientes de outras fontes.

3.3.1.2 Minerais

O mel é composto de uma pequena quantidade de minerais. Segundo Vanhanen, Emmertz e Savage (2011), méis que apresentam tonalidades mais escuras geralmente possuem maiores teores desses elementos e, por isso, méis de melato comumente demonstram maior teor de minerais quando comparados a méis oriundos de néctar.

Pisani, Protano e Riccobono (2008) avaliaram méis de melato, multiflorais e monoflorais de *Hedysarum coronarium* L. e *T.pratensae* L. coletados no estado de Siena, Itália. Os autores relataram maiores teores de potássio, cálcio, sódio, magnésio, ferro, estrôncio e manganês em méis de melato (3440 mg kg⁻¹; 356 mg kg⁻¹; 148 mg kg⁻¹; 139 mg kg⁻¹, 10,1 mg kg⁻¹; 1,76 mg kg⁻¹ e 1,7 mg kg⁻¹; respectivamente) quando comparado com méis multiflorais (média de 1093 mg kg⁻¹; 254 mg kg⁻¹; 94,9 mg kg⁻¹; 52,3 mg kg⁻¹; 2,49 mg kg⁻¹; 1,42 mg kg⁻¹ e 1,68 mg kg⁻¹; respectivamente) e monoflorais *Hedysarum coronarium* L. (média de 207 mg kg⁻¹; 172 mg kg⁻¹; 74,1 mg kg⁻¹; 28,3 mg kg⁻¹; 1,77 mg kg⁻¹; 1,14 mg kg⁻¹ e 0,19 mg kg⁻¹; respectivamente) e *T.pratensae* L. (média de 274 mg kg⁻¹; 262 mg kg⁻¹; 63,6 mg kg⁻¹; 26,2 mg kg⁻¹; 2,83 mg kg⁻¹; 1,27 mg kg⁻¹ e 0,28 mg kg⁻¹, respectivamente).

Avaliando méis da Nova Zelândia, Vanhanen, Emmertz e Savage (2011) observaram que o teor total de minerais presentes em méis monoflorais era equivalente a menos da metade apresentada em méis de melato. Os méis monoflorais apresentaram valores mínimo de 126 mg kg⁻¹ e máximo de 1.930 mg kg⁻¹ enquanto que no mel de melato o teor total de minerais foi de 4.060 mg kg⁻¹.

Além do importante papel na dieta humana, os minerais estão sendo investigados como possíveis marcadores em alimentos, inclusive no mel. O teor de minerais presente nesse tipo de produto é altamente dependente da quantidade e da variedade desses elementos que são absorvidos pelas plantas através do solo e da água (GONZÁLEZ-MIRET *et al.*, 2005) e também da contaminação do próprio ambiente (TUZEN *et al.*, 2007; GAŠIĆ *et al.*, 2015). Por esse motivo, o teor de minerais pode ser influenciado pela característica da região onde o mel foi coletado, sendo explorado como um possível marcador de origem geográfica.

Nesse sentido, Madejczyk e Baralkiewicz (2008) avaliaram a composição de minerais de méis de melato e monofloral de colza provenientes de seis regiões da Polônia e quantificaram dez compostos (potássio, magnésio, cálcio, ferro, zinco, cobre, alumínio, boro, manganês, níquel e cromo). Os autores concluíram que méis de melato possuíam valores mais elevados de sódio, magnésio e zinco enquanto que os méis de colza apresentaram maiores teores de cálcio e manganês. Também foi possível diferenciar os méis de melato dos méis florais e distingui-los geograficamente por meio da análise estatística multivariada HCA.

3.3.1.3 Compostos voláteis

Cada tipo específico de mel possui sabor e aroma característicos e bem definidos, os quais são determinados e influenciados em grande parte pela composição da sua fração volátil (ESCRICHE *et al.*, 2009).

Os compostos voláteis são constituintes minoritários do mel podendo ser oriundos da planta fonte de néctar (ALISSANDRAKIS *et al.*, 2003), da fonte de melato (CASTRO-VÁZQUEZ *et al.*, 2009), produzido por abelhas, decorrentes do processo de maturação do mel ainda dentro da colmeia, ou durante o processo de maturação pós-colheita (ROWLAND *et al.*, 1995). Também são responsáveis por várias características sensoriais (SORIA; MARTÍNEZ-CASTRO; SANZ, 2007) estando diretamente relacionados ao aroma de mel (SORIA; MARTÍNEZ-CASTRO; SANZ, 2008). Compostos derivados de furano como furfural, álcool furfurílico e 5-hidroximetilfurfural, por exemplo, formados pela degradação de açúcares durante longo período de armazenamento e compostos derivados por reações de Maillard como acetilpirrol podem influenciar o aroma do mel, originando notas queimadas ou tostadas prejudicando a qualidade, além de indicar

possível deterioração do produto (CASTRO-VÁZQUEZ; DÍAZ-MAROTO; PÉREZ-COELLO, 2006).

Soria *et al.* (2004) avaliaram 16 amostras de méis de melato e 29 méis de néctar de diferentes origens coletados na Espanha e verificaram que 70% delas foram corretamente diferenciadas por meio dos compostos borneol-álcool terpenóide (presente em maior concentração no mel de melato) e 1-(2-furanyl)-etanona (composto característico em méis de néctar). O mesmo estudo ainda relacionou valores elevados de polifenóis à presença dos compostos treo-2,3-butanodiol e eritro-2,3-butanodiol, ambos encontrados em maiores concentrações em méis de melato.

O trabalho desenvolvido por Karabagias *et al.* (2014a), avaliou méis de *Pinus* spp. coletados em distintas regiões da Grécia e identificou cinquenta e cinco diferentes compostos voláteis, os quais pertenciam às classes de compostos dos ésteres, álcoois, ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos e outros. Os autores concluíram que, para esse grupo de amostras avaliadas, os compostos voláteis selecionados garantem maior precisão sobre a origem geográfica, quando comparados a métodos que utilizam parâmetros físico-químicos, tais como pH, umidade, condutividade elétrica, cinzas e acidez.

Outras características também podem ser observadas a partir de compostos voláteis específicos. Karabagias *et al.* (2014a), por exemplo, observaram que o composto furfural está fortemente relacionado com o armazenamento prolongado do mel e, Castro-Vázquez; Díaz-Maroto; Pérez-Coello, (2006) verificaram que o composto acetilpirrol pode ser originado a partir de reações de Maillard decorrentes de processamento térmico ou armazenamento prolongado de méis.

4 Legislação e Padrão de Identidade e Qualidade de Mel

Cada país ou conjunto de países possui uma legislação própria que visa estabelecer os padrões de identidade e qualidade obrigatórios do mel que serão comercializados dentro de um determinado território, conforme disposto nos Anexos A e B.

No Brasil o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA - define os padrões de identidade e qualidade do mel sendo estipulados e determinados segundo consta na Instrução Normativa N°. 11 de 20 de outubro de 2000 (BRASIL, 2000). Para a União Européia, os méis devem atender aos requisitos estipulados pela Diretiva 2001/110/CE do conselho de 20 de dezembro de 2001 (UNIÃO

EUROPÉIA, 2001). Para os países que integram o Mercado Comum do Sul – MERCOSUL, a comercialização de mel entre os países integrantes deve seguir as regras estabelecidas no Regulamento Técnico do Mercosul de Identidade e Qualidade do Mel – N°. 15, estabelecido em 1994 (MERCOSUL, 1994). O *Codex Alimentarius*, oriundo da união entre a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), estabelece o padrão de identidade e qualidade para méis na publicação “Codex Stan 12” de 1981 (CODEX ALIMENTARIUS, 1981), com atualização no ano de 2001 (CODEX ALIMENTARIUS, 2001) e serve como referência para a criação ou modificação das leis referentes a méis florais e de melato em vários países do mundo.

É possível observar que as legislações apresentadas se assemelham entre si embora tenham algumas particularidades (Anexos A e B). O mel é um produto cujas características são fortemente influenciadas pelo clima, solo e origem botânica (IGLESIAS *et al.*, 2004; PYRZYNSKA; BIESAGA, 2009) e por esse motivo as legislações são formuladas de forma a abranger as peculiaridades do produto produzido em determinado país ou região. No entanto, todas as legislações agrupam parâmetros que devem ser avaliados a fim de se obter dados consistentes em relação à maturidade, pureza e deterioração de méis e, se os requisitos mínimos ou máximos não forem cumpridos esses produtos não estão aptos a serem comercializados.

4.1 Maturidade

Um dos fatores observados como padrão de identidade e qualidade do mel é a maturidade do produto, avaliado a partir dos teores de açúcares redutores, sacarose e umidade. Esses valores são determinados pela legislação de vários países, incluindo a do Brasil (Anexos A e B). A maturidade do mel indica que a colheita do produto foi realizada no momento adequado, ou seja, quando os favos já encontram-se operculados com uma fina camada de cera depositada pelas abelhas (SANTOS; OLIVEIRA, 2013; BERGAMO *et al.*, 2018b).

Os açúcares presentes no mel são formados a partir da ação de várias enzimas. Resumidamente, as abelhas recolhem o néctar, com altos teores de sacarose, e a seguir depositam enzimas como α e β -glicosidase, α e β -amilase e β -frutuosidase que, com o passar do tempo, transformam a sacarose nos demais açúcares encontrados no mel como a glicose e a frutose (DE LA FUENTE *et al.*, 2011). No mel de melato, a

principal fonte de açúcar são as excreções liberadas pela cochonilha. A seiva consumida pela cochonilha é rica em sacarose que é parcialmente degradada a outros açúcares como frutose, glicose, dissacarídeos (trealose e trealulose) e oligossacarídeos (melezitose e erlose) pelo sistema gastro-intestinal desses insetos (WATANABE *et al.*, 2014). Essa diversidade de açúcares parcialmente digerida pertencente à composição dessas excreções é então coletada pela abelha que também deposita suas enzimas no mesmo processo citado para produção de mel floral. Se o tempo de maturação do mel não for respeitado, independente da origem botânica do mel (floral ou melato), maiores teores de sacarose e menores teores de açúcares redutores (glicose e frutose) poderão ser encontrados, pois as enzimas atuantes no processo de transformação não terão convertido a sacarose em outros açúcares. Altos teores de sacarose também podem indicar adulteração do produto com açúcar comercial (SODRÉ *et al.*, 2007).

Os carboidratos são responsáveis pela definição de algumas características como a granulação, que é originada pela precipitação da glicose. Embora a formação de precipitados modifique a textura do produto, e como consequência, tenham menor aceitação por parte dos consumidores, ele ainda pode ser consumido desde que as características sensoriais sejam preservadas (CAVIA *et al.*, 2007). Entretanto, esses méis tendem a ter menor vida útil, pois com a precipitação da glicose ocorre um aumento do teor de umidade da fase líquida, permitindo que células de leveduras osmofílicas (micro-organismos que se desenvolvem em condições desfavoráveis: atividade de água baixa e concentração de glicídios alta) se multipliquem e provoquem a fermentação do produto inviabilizando sua comercialização e o consumo (CAVIA *et al.*, 2002). O mel de melato, por sua vez, por conter menores teores desse carboidrato normalmente não apresenta essa peculiaridade (FISCHER *et al.*, 2002; BELAY *et al.*, 2015).

A umidade também é outro parâmetro observado para avaliar a maturidade do mel, pois valores acima do que a legislação estabelece (Anexos A e B) podem indicar que o produto foi colhido antes da sua completa maturação dentro da colmeia (SANTOS; OLIVEIRA, 2013). Esse parâmetro está diretamente relacionado com as propriedades físicas do mel, principalmente com a viscosidade, e também pode levar à fermentação indesejável do produto durante o armazenamento (FECHNER *et al.*, 2016). Como mencionado anteriormente, valores elevados de umidade tornam o meio propício para a ação de leveduras, as quais consomem a frutose e a glicose, liberando álcool etílico e

dióxido de carbono. Na presença de oxigênio, o álcool é convertido em ácido acético e água tornando o sabor do mel ácido, inviabilizando seu consumo (CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006).

4.2 Pureza

Para a avaliação da pureza do mel, os parâmetros avaliados e estabelecidos pela legislação (Anexos A e B) são os sólidos insolúveis, minerais e condutividade elétrica.

Os sólidos insolúveis são avaliados como uma importante medida de controle higiênico-sanitário do produto, pois os valores encontrados para esse parâmetro estão relacionados a resíduos como cera, patas e asas das abelhas e outras sujidades provenientes do campo (MENDES *et al.*, 2009) ou do processamento inadequado (SILVA *et al.*, 2009; SANTOS; OLIVEIRA, 2013).

O teor de cinzas é representado por todo o resíduo inorgânico remanescente da queima de matéria orgânica. É constituído principalmente por minerais como potássio, sódio, cálcio e magnésio e, por esse motivo é citado pela Legislação Brasileira e do Mercosul (Anexos A e B) como “minerais/cinzas”. É considerado um parâmetro de pureza porque se algumas etapas do beneficiamento do mel forem mal conduzidas, material inorgânico (como sujidades) poderá ser agregado ao produto (SANTOS; OLIVEIRA, 2013). Ainda, méis de melato que apresentem valores abaixo do estabelecido podem indicar a existência de adição de mel floral em sua composição (BERGAMO *et al.*, 2018b).

Internacionalmente, o teor de cinzas foi substituído pela condutividade elétrica, uma vez que esse parâmetro é fortemente influenciado pela quantidade de minerais no mel (ALQARNI *et al.*, 2014). Por esse motivo, quanto maior o teor de cinzas presente no produto maior será a condutividade elétrica, podendo assim indicar excesso de material inorgânico na amostra.

4.3 Deterioração

Com o intuito de avaliar a possível deterioração de méis, a legislação vigente (Anexos A e B) determina que os parâmetros de acidez livre, diastase e 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF) sejam avaliados.

A acidez livre presente no mel é proveniente dos ácidos orgânicos, oriundos da fonte de néctar ou secreções e excreções

sacarínicas utilizadas para ser transformada em mel (MENDES *et al.*, 2009). No entanto, quando o processo de fermentação é iniciado, os açúcares presentes no mel são transformados em ácidos por meio de leveduras, elevando a acidez (CHIRIFE; ZAMORA; MOTTO, 2006; CAVIA *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2009). Por esse motivo, os limites máximos para a acidez livre são determinados pela legislação e, valores acima do que é estipulado podem indicar uma possível deterioração do produto.

A diastase é um termo utilizado para referenciar as enzimas que catalisam a quebra do amido, originando maltose (SAK-BOSNAR; SAKAČ, 2012), representadas no mel principalmente pelas α e β -amilase (SILVA *et al.*, 2016) que são provenientes do néctar e das próprias abelhas (AHMED *et al.*, 2012). Por ser sensível ao calor e a longos períodos de armazenamento, a atividade diastásica pode indicar um possível superaquecimento do produto, acima de 60°C, bem como prolongado período de armazenamento (GOIS *et al.*, 2013; YÜCEL; SULTANOĞLU, 2013; FECHNER *et al.*, 2016). Por esse motivo, seus limites mínimos são estabelecidos em legislação (Anexos A e B).

O hidroximetilfurfural, cientificamente denominado como 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), é um produto originado a partir da transformação dos açúcares presentes no mel (MELO; DUARTE; MATA, 2003) podendo ser formado lentamente durante o armazenamento ou de forma acelerada, caso o produto seja aquecido (FECHNER *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2016). Esse composto, portanto, pode ser originado após o produto ser submetido a uma fonte de calor ou simplesmente pela ação do tempo e por isso tem sido utilizado como parâmetro de deterioração do mel, tendo seus limites máximos definidos em legislação (Anexos A e B).

4.4 Outras características

A cor é considerada como um padrão de identidade do mel, e, segundo o que determinam as legislações vigentes (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; MERCOSUL, 1994; BRASIL, 2000; EUROPEAN COMMISSION, 2002), pode variar de uma tonalidade quase incolor a castanho-escuro. Segundo Bertoncelej *et al.* (2007) assim como o sabor e o aroma, o parâmetro cor é uma das características que servem para indicar a fonte botânica do mel. Tonalidades mais escuras também estão associadas com maiores quantidades de compostos fenólicos totais e maior atividade antioxidante (BERTONCELJ *et al.*,

2007; KUŠ; VAN RUTH, 2015), além de maiores teores de minerais (GONZÁLEZ-MIRET *et al.*, 2005).

Para o mel, o modelo descrito por um diagrama tridimensional, chamado CIELAB, é muito utilizado na determinação da cor (BERTONCELJ *et al.*, 2007; KARABAGIAS *et al.*, 2014; KUŠ; VAN RUTH, 2015). Baseia-se na adoção de um sistema em que são determinados o parâmetro de luminosidade (L^*) e as coordenadas a^* (onde valores negativos expressam a intensidade do tom verde e valores positivos a intensidade da cor vermelha) e b^* (onde valores negativos expressam a intensidade do tom azul e valores positivos expressam a intensidade do tom vermelho) (ISO, 2008).

Alguns autores sugerem que a origem botânica pode ser verificada a partir da avaliação de alguns parâmetros físico-químicos associados, incluindo aqueles investigados como critérios para padrões de identidade e qualidade (POPEK, 2002; OROIAN, 2012; MANZANARES *et al.*, 2014; AMIRY; ESMAILI; ALIZADEH, 2017; OROIAN; ROPCIUC, 2017; POPEK; HALAGARDA; KURSA, 2017; OROIAN *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2018; BERGAMO *et al.*, 2018b). Popek (2002), por exemplo, diferenciou méis de melato e méis florais a partir da análise de função discriminante (do inglês “*discriminant function analysis*”) dos parâmetros associados de condutividade elétrica, acidez total, teor de cinzas, sacarose e açúcares redutores. Manzanares *et al.* (2011), por sua vez, distinguiram méis de melato e florais a partir dos resultados de pH, acidez, prolina, diastase, invertase e melezitose, associada à análise discriminante linear – LDA (do inglês “*linear discriminant analysis*”). Popek, Halagarda e Kursá (2017) além de proporem a diferenciação de diferentes origens botânicas de méis florais e de melato a partir de doze parâmetros físico-químicos, também sugeriram um modelo de classificação para a distinção das amostras baseado no método de árvore de classificação e regressão de dados - C&RT (do inglês “*classification and regression trees*”).

REFERÊNCIAS

- AHMED, M.; DJEBLI, N.; AISSAT, S.; BACHA, S.; MESLEM, A.; KHIATI, B. Synergistic inhibition of natural honey and potato starch and their correlation with diastase number and sugar content against *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 1, n. 1, 2012.
- ALDA-GARCILOPE, C.; GALLEGO-PICÓ, A.; BRAVO-YAGÜE, J. C.; GARCINUÑO-MARTÍNEZ, R. M.; FERNÁNDEZ-HERNANDO, P. Characterization of Spanish honeys with protected designation of origin “Miel de Granada” according to their mineral content. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1785–1788, dez. 2012.
- ALIFERIS, K. A.; TARANTILIS, P. A.; HARIZANIS, P. C.; ALISSANDRAKIS, E. Botanical discrimination and classification of honey samples applying gas chromatography/mass spectrometry fingerprinting of headspace volatile compounds. **Food Chemistry**, v. 121, n. 3, p. 856–862, 2010.
- ALISSANDRAKIS, E.; DAFERERA, D.; TARANTILIS, P. A.; POLISSIOU, H.; HARIZANIS, P. C. Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. **Food Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 575–582, set. 2003.
- ALQARNI, A. S.; OWAYSS, A. A.; MAHMOUD, A. A.; HANNAN, M. A. Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, n. 5, p. 618–625, 2014.
- AMIRY, S.; ESMAILI, M.; ALIZADEH, M. Classification of adulterated honeys by multivariate analysis. **Food Chemistry**, v. 224, p. 390–397, 2017.
- ANGYAL, S. J. Carbohydrates. **Comprehensive Biochemistry**, v. 5, p. 297–303, 2014.
- ANKLAM, E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. **Food Chemistry**, v. 63, n. 4, p. 549–562, 1998.
- ARCEUSZ, A.; WESOLOWSKI, M. Quality consistency evaluation of *Melissa officinalis* L. commercial herbs by HPLC fingerprint and quantitation of selected phenolic acids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 83, p. 215–220, 2013.
- BAJOUB, A.; MEDINA-RODRÍGUEZ, S.; GÓMEZ-ROMERO, M.; AJAL, E. A.; BAGUR-GONZÁLEZ, M. G.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; CARRASCO-PANCORBO, A. Assessing the

- varietal origin of extra-virgin olive oil using liquid chromatography fingerprints of phenolic compound, data fusion and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 215, p. 245–255, 2017.
- BELAY, A.; SOLOMON, W. K. K.; BULTOSSA, G.; ADGABA, N.; MELAKU, S. Botanical origin, colour, granulation, and sensory properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. **Food chemistry**, v. 167, p. 213–9, 15 jan. 2015.
- BERGAMO, G.; SERAGLIO, S. K. T.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Mineral profile as a potential parameter for verifying the authenticity of bracatinga honeydew honeys. **LWT**, v. 97, p. 390–395, 17 jul. 2018a.
- BERGAMO, G.; SERAGLIO, S. K. T.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Physicochemical characteristics of bracatinga honeydew honey and blossom honey produced in the state of Santa Catarina: An approach to honey differentiation. **Food Research International**, v. 116, p. 745–754, 8 set. 2018b.
- BERTONCELJ, J.; DOBERSEK, U.; JAMNIK, M.; GOLOB, T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 822–828, 2007.
- BOJKO, B.; REYES-GARCÉS, N.; BESSONNEAU, V.; GORYŃSKI, K.; MOUSAVI, F.; SOUZA SILVA, E. A.; PAWLISZYN, J. Solid-phase microextraction in metabolomics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 61, p. 168–180, 2014.
- BRASIL. Instrução normativa n.11. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA**, 2000.
- CAMPOS, G.; DELLA-MODESTA, R. C.; SILVA, T. J. P.; BAPTISTA, K. E.; GOMIDES, M. F.; GODOY, R. L. Classificação do mel em floral ou mel de melato. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 1–5, abr. 2003.
- CAN, Z.; YILDIZ, O.; SAHIN, H.; AKYUZ TURUMTAY, E.; SILICI, S.; KOLAYLI, S. An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. **Food Chemistry**, v. 180, p. 133–41, 1 ago. 2015. Disponível em:
- CASTRO-PUYANA, M.; HERRERO, M. Metabolomics approaches based on mass spectrometry for food safety, quality and traceability. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 52, p. 74–87, 2013.
- CASTRO-VÁZQUEZ, L.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; GONZÁLEZ-VIÑAS, M. A.; PÉREZ-COELLO, M. S. Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis. **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 1022–1030, 2009.

- CASTRO-VÁZQUEZ, L.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; PÉREZ-COELLO, M. S. Volatile composition and contribution to the aroma of spanish honeydew honeys. Identification of a new chemical marker. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 13, p. 4809–4813, 28 jun. 2006.
- CASTRO-VÁZQUEZ, L.; LEON-RUIZ, V.; ALAÑÓN, M. E.; PÉREZ-COELLO, M. S.; GONZÁLEZ-PORTO, A. V. Floral origin markers for authenticating Lavandin honey (*Lavandula angustifolia* x *latifolia*). Discrimination from Lavender honey (*Lavandula latifolia*). **Food Control**, v. 37, p. 362–370, 2014.
- CAVIA, M. .; FERNÁNDEZ-MUIÑO, M. .; GÓMEZ-ALONSO, E.; MONTES-PÉREZ, M. .; HUIDOBRO, J. .; SANCHO, M. . Evolution of fructose and glucose in honey over one year: influence of induced granulation. **Food Chemistry**, v. 78, n. 2, p. 157–161, ago. 2002.
- CAVIA, M. M.; FERNÁNDEZ-MUIÑO, M. A.; ALONSO-TORRE, S. R.; HUIDOBRO, J. F.; SANCHO, M. T. Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1728–1733, jan. 2007.
- CHEN, J.; LU, Y. H.; WEI, D. Z.; ZHOU, X. L. Establishment of a Fingerprint of Raspberries by LC. **Chromatographia**, v. 70, n. 5–6, p. 981–985, 4 set. 2009.
- CHEN, Y.; ZHU, S. Bin; XIE, M. Y.; NIE, S. P.; LIU, W.; LI, C.; GONG, X. F.; WANG, Y. X. Quality control and original discrimination of *Ganoderma lucidum* based on high-performance liquid chromatographic fingerprints and combined chemometrics methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 623, n. 2, p. 146–156, 2008.
- CHIARI, W. C.; TOLEDO, V. D. A. A.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; RÚVOLO-TAKASUSUKI, M. C. C.; TOLEDO, T. C. S. D. O. A.; LOPES, T. S. Polinização por *Apis mellifera* em soja transgênica [*Glycine max* (L.) Merrill] Roundup ReadyTM cv. BRS 245 RR e convencional cv. BRS 133. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 30, n. 2, p. 267–271, 2008.
- CHIRIFE, J.; ZAMORA, M. C.; MOTTO, A. The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 3, p. 287–292, 2006.
- CIFUENTES, A. Food analysis and Foodomics. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 43, 2009.
- CODEX ALIMENTARIUS. STANDARD FOR HONEY CODEX STAN 12-1981. 1981.

- CODEX ALIMENTARIUS. Codex Alimentarius Commission Standards. **Codex Stan 12-1981**, p. 1–8, 2001.
- COELHO, M. de S.; SILVA, J. H. V.; OLIVEIRA, E. R. A.; ARAÚJO, J. A.; LIMA, M. R. Alimentos convencionais e alternativos para abelhas. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 1, p. 1–9, 2008.
- CONTI, M. E.; STIPEIKIS, J.; CAMPANELLA, L.; CUCINA, D.; TUDINO, M. B. Characterization of Italian honeys (Marche Region) on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. **Chemistry Central Journal**, v. 1, n. 1, p. 14, 2007.
- CORVUCCI, F.; NOBILI, L.; MELUCCI, D.; GRILLENZONI, F.-V. The discrimination of honey origin using melissopalynology and Raman spectroscopy techniques coupled with multivariate analysis. **Food Chemistry**, v. 169, p. 297–304, 2015.
- CUADROS-RODRÍGUEZ, L.; RUIZ-SAMBLÁS, C.; VALVERDE-SOM, L.; PÉREZ-CASTAÑO, E.; GONZÁLEZ-CASADO, A. Chromatographic fingerprinting: An innovative approach for food “identification” and food authentication – A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 909, p. 9–23, 2016.
- CUBERO-LEON, E.; PEÑALVER, R.; MAQUET, A. Review on metabolomics for food authentication. **Food Research International**, v. 60, p. 95–107, 2014.
- DAMIANI, S. **O mel descoberto pela Alemanha**. Disponível em: <<https://blogmeltosol.wordpress.com/page/2/>>. Acesso em: 5 ago. 2015.
- DE LA FUENTE, E.; RUIZ-MATUTE, A. I.; VALENCIA-BARRERA, R. M.; SANZ, J.; MARTÍNEZ-CASTRO, I.; MARTÍNEZ CASTRO, I. Carbohydrate composition of Spanish unifloral honeys. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1483–1489, dez. 2011.
- DIEZ, M. J.; ANDRES, C.; TERRAB, A. Physicochemical parameters and pollen analysis of Moroccan honeydew honeys. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p. 167–176, fev. 2004.
- DOWNEY, G.; HUSSEY, K.; KELLY, D. J.; WALSHE, T. F.; MARTIN, P. G. Preliminary contribution to the characterisation of artisanal honey produced on the island of Ireland by palynological and physico-chemical data. **Food Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 347–354, 2005.
- ESCRICHE, I.; VISQUERT, M.; JUAN-BORRÁS, M.; FITO, P. Influence of simulated industrial thermal treatments on the volatile fractions of different varieties of honey. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 329–338, jan. 2009.

ESCUREDO, O.; DOBRE, I.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; SEIJO, M. C. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. **Food Chemistry**, v. 149, p. 84–90, abr. 2014.

ESCUREDO, O.; MÍGUEZ, M.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; CARMEN SEIJO, M. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2–3, p. 851–6, 1 jun. 2013.

EUROPEAN COMMISSION. European Commission. Council Directive 2001/110/EC. Relating to honey. Journal of European Communities, 47–52. **Official Journal of European Communities**, 2002.

FECHNER, D. C.; MORESI, A. L.; RUIZ DÍAZ, J. D.; PELLERANO, R. G.; VAZQUEZ, F. A. Multivariate classification of honeys from Corrientes (Argentina) according to geographical origin based on physicochemical properties. **Food Bioscience**, v. 15, p. 49–54, 2016.

FISCHER, M. K.; VÖLKL, W.; SCHOPF, R.; HOFFMANN, K. H. Age-specific patterns in honeydew production and honeydew composition in the aphid *Metopeurum fuscoviride*: implications for ant-attendance. **Journal of Insect Physiology**, v. 48, n. 3, p. 319–326, mar. 2002.

GAINES-DAY, H. R.; GRATTON, C. Crop yield is correlated with honey bee hive density but not in high-woodland landscapes. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 218, p. 53–57, fev. 2016.

GARCÍA-CAÑAS, V.; SIMÓ, C.; LEÓN, C.; CIFUENTES, A. Advances in Nutrigenomics research: Novel and future analytical approaches to investigate the biological activity of natural compounds and food functions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 51, n. 2, p. 290–304, 2010.

GAŠIĆ, U. M.; NATIĆ, M. M.; MIŠIĆ, D. M.; LUŠIĆ, D. V.; MILOJKOVIĆ-OPSENICA, D. M.; TEŠIĆ, Ž. L.; LUŠIĆ, D. Chemical markers for the authentication of unifloral *Salvia officinalis* L. honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 44, p. 128–138, dez. 2015.

GOIS, G. C.; RODRIGUES, A. E.; LIMA, C. A. B. de; SILVA, L. T. Composição do mel de *Apis mellifera*: Requisitos de qualidade. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, n. 2, p. 137–147, 2013.

GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; TERRAB, A.; HERNANZ, D.; FERNÁNDEZ-RECAMALES, M. Á. A.; HEREDIA, F. J. Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by

- their botanical origin. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 7, p. 2574–2580, 6 abr. 2005.
- GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M.; GÓMEZ-BÁREZ, J. A.; GARCIA-VILLANOVA, R. J.; RIVAS-PALÁ, T.; ALBAJAR, R. A.; SÁNCHEZ, J. S. Geographical discrimination of honeys by using mineral composition and common chemical quality parameters. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 1, p. 157–165, 1 jan. 2000.
- HAN, L.; LIU, X.; YANG, N.; LI, J.; CAI, B.; CHENG, S. Simultaneous chromatographic fingerprinting and quantitative analysis of flavonoids in Pollen Typhae by high-performance capillary electrophoresis. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 2, n. 6, p. 602–609, 2012.
- IBÁÑEZ, C.; SIMÓ, C.; GARCÍA-CAÑAS, V.; CIFUENTES, A.; CASTRO-PUYANA, M. Metabolomics, peptidomics and proteomics applications of capillary electrophoresis-mass spectrometry in Foodomics: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 802, p. 1–13, 2013.
- IBGE. **Produção da pecuária municipal**. 51p. 2017.
- IGLESIAS, M. T.; DE LORENZO, C.; DEL CARMEN POLO, M.; MARTÍN-ALVAREZ, P. J.; PUEYO, E. Usefulness of amino acid composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 84–9, 14 jan. 2004.
- ISO. International Organization for Standardization 11664-4:2008, Colorimetry - Part 4: CIE 1976 L* a* b* Colour space. 2008.
- ITAGIBA, M. G. O. R. **Noções básicas sobre criação de abelhas**. 1. ed. São Paulo: Nobel, 1997.
- JANDRIĆ, Z.; HAUGHEY, S. A.; FREW, R. D.; MCCOMB, K.; GALVIN-KING, P.; ELLIOTT, C. T.; CANNAPAN, A. Discrimination of honey of different floral origins by a combination of various chemical parameters. **Food Chemistry**, v. 189, p. 52–59, 2015.
- JUMHAWAN, U.; PUTRI, S. P.; YUSIANTO; BAMBANG, T.; FUKUSAKI, E. Application of gas chromatography/flame ionization detector-based metabolite fingerprinting for authentication of Asian palm civet coffee (*Kopi Luwak*). **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 120, n. 5, p. 555–561, 2015.
- JURADO-SÁNCHEZ, B.; BALLESTEROS, E.; GALLEGO, M. Gas chromatographic determination of 29 organic acids in foodstuffs after continuous solid-phase extraction. **Talanta**, v. 84, n. 3, p. 924–30, 15 maio 2011.
- KAMAL, M. A.; KLEIN, P. Determination of sugars in honey by liquid

- chromatography. **Saudi journal of biological sciences**, v. 18, n. 1, p. 17–21, jan. 2011.
- KARABAGIAS, I. K.; BADEKA, A.; KONTAKOS, S.; KARABOURNIOTI, S.; KONTOMINAS, M. G. Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. **Food chemistry**, v. 146, p. 548–57, 1 mar. 2014.
- KASKONIENE, V.; VENSKUTONIS, P. R. R.; CEKSTERYTE, V. Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 5, p. 801–807, jun. 2010.
- KIM, S.; KIM, J.; YUN, E. J.; KIM, K. H. Food metabolomics: From farm to human. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 37, p. 16–23, 2016.
- KUŚ, P. M.; VAN RUTH, S. Discrimination of Polish unifloral honeys using overall PTR-MS and HPLC fingerprints combined with chemometrics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 69–75, 2015.
- LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods of Melissopalynology. **Bee World**, v. 59, n. 4, p. 139–157, 31 jan. 1978.
- LYRA, W. da S.; SILVA, E. C. da; ARAÚJO, M. C. U. de; FRAGOSO, W. D.; VERAS, G. Classificação periódica: um exemplo didático para ensinar análise de componentes principais. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1594–1597, 2010.
- MADEJCZYK, M.; BARALKIEWICZ, D. Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. **Analytica chimica acta**, v. 617, n. 1–2, p. 11–7, 9 jun. 2008.
- MALERBO-SOUZA, D. T.; HALAK, A. L. Efeito da interação abelha-flor na produção de frutos em cultura de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Zootecnia Tropical**, v. 31, n. 1, p. 78–93, 2013.
- MANTILLA, S. P. S.; SANTOS, É. B.; BARROS, L. B. de; FREITAS, M. Q. de. Análise descritiva quantitativa aplicada em mel de abelhas (*Apis mellifera*): Uma revisão. **Colloquium Agrariae**, v. 8, n. 2, p. 75–84, 22 dez. 2012.
- MANZANARES, A. B.; GARCÍA, Z. H.; GALDÓN, B. R.; RODRÍGUEZ, E. R.; ROMERO, C. D. Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 664–672, maio 2011.

- MANZANARES, A. B.; GARCÍA, Z. H.; GALDÓN, B. R.; RODRÍGUEZ, E. R.; ROMERO, C. D. Physicochemical characteristics of minor monofloral honeys from Tenerife, Spain. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n. 2, p. 572–578, 2014.
- MARCHINI, L. C.; REIS, V. D. A.; MORETI, A. C. de C. C. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 949–953, 2006.
- MARIANO DA SILVA, F. M. de S.; MARIANO DA SILVA, S.; COSTA NETTO, A. P. da. Aplicação do índice de Kirkwood para diferenciar mel floral e de melato oriundos do município de Bom Retiro (SC). **Agrarian**, v. 4, n. 13, p. 244–250, 2011.
- MATO, I.; HUIDOBRO, J. F.; SIMAL-LOZANO, J.; SANCHO, M. T. Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1541–50, 8 mar. 2006.
- MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. **Bracatinga, mimosa scabrella bentham: cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis: Epagri, 2014.
- MELO, Z. F. N.; DUARTE, M. E. M.; MATA, M. E. M. R. C. Estudo das alterações do hidroximetilfurfural e da atividade diastásica em méis de abelha em diferentes condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 5, n. 1, p. 89–99, 2003.
- MENDES, C. de G.; SILVA, J. B. A. da; MESQUITA, L. X. de; MARACAJA, P. B. As análises de mel: Revisão. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 2, 2009.
- MERCOSUL. Regulamento técnico MERCOSUL de identidade e qualidade do mel. **MERCOSUL/GMC/RES n.15**, 1994.
- MIAO, Q.; KONG, W.; ZHAO, X.; YANG, S.; YANG, M. GC-FID coupled with chemometrics for quantitative and chemical fingerprinting analysis of *Alpinia oxyphylla* oil. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 102, p. 436–442, 2015.
- MOREIRA, R. F. A.; MARIA, C. A. B. Glicídios no mel. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 516–525, 2001.
- NASCIMENTO, K. S. do; SATTLER, J. A. G.; MACEDO, L. F. L.; GONZÁLEZ, C. V. S.; MELO, I. L. P.; ARAÚJO, E. S.; GRANATO, D.; SATTLER, A.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **LWT**, v. 91, p. 85–94, 1 maio 2018.

- NAYIK, G. A.; DAR, B. N.; NANDA, V. Physico-chemical, rheological and sugar profile of different unifloral honeys from Kashmir valley of India. **Arabian Journal of Chemistry**, ago. 2015.
- NI, C.; ZHU, B.; WANG, N.; WANG, M.; CHEN, S.; ZHANG, J.; ZHU, Y. Simple column-switching ion chromatography method for determining eight monosaccharides and oligosaccharides in honeydew and nectar. **Food Chemistry**, v. 194, p. 555–560, 1 mar. 2016.
- NOVAIS, J. S.; LIMA, L. C. L.; SANTOS, F. de A. R. Bee pollen loads and their use in indicating flowering in the Caatinga region of Brazil. **Journal of Arid Environments**, v. 74, n. 10, p. 1355–1358, 2010.
- OLIVEIRA, M. L.; CUNHA, J. A. Abelhas africanizadas *Apis mellifera* *sutellata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica? **Acta Amazônica**, v. 35, n. 3, p. 389–394, 2005.
- OLIVEIRA, M. O. de; SOUZA, F. X. de; FREITAS, B. M. Abelhas visitantes florais, eficiência polinizadora e requerimentos de polinização na cajazeira (*Spondias mombin*). **Revista Acadêmica**, v. 10, n. 3, p. 277–284, 2012.
- OROIAN, M. Physicochemical and rheological properties of Romanian honeys. **Food Biophysics**, v. 7, n. 4, p. 296–307, 5 dez. 2012.
- OROIAN, M.; ROPCIUC, S. Honey authentication based on physicochemical parameters and phenolic compounds. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 138, p. 148–156, 2017.
- OROIAN, M.; ROPCIUC, S.; PADURET, S.; SANDULEAC, E. T. Authentication of Romanian honeys based on physicochemical properties, texture and chemometric. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 13, p. 4240–4250, 9 dez. 2017.
- OUCHEMOUKH, S.; SCHWEITZER, P.; BEY, M. B.; DJOUDAD-KADJI, H.; LOUAILECHE, H. HPLC sugar profiles of Algerian honeys. **Food Chemistry**, v. 121, n. 2, p. 561–568, 2010.
- PARDO, N.; VERA, A.; BARBOSA, S.; HIDALGO-SERRANO, M.; NÚÑEZ, O.; SAURINA, J.; HERNÁNDEZ-CASSOU, S.; PUIGNOU, L. Characterization, classification and authentication of fruit-based extracts by means of HPLC-UV chromatographic fingerprints, polyphenolic profiles and chemometric methods. **Food Chemistry**, v. 221, p. 29–38, 2016.
- PISANI, A.; PROTANO, G.; RICCOBONO, F. Minor and trace elements in different honey types produced in Siena County (Italy). **Food Chemistry**, v. 107, n. 4, p. 1553–1560, abr. 2008.
- PIZARRO, C.; RODRÍGUEZ-TECEDOR, S.; PÉREZ-DEL-

- NOTARIO, N.; ESTEBAN-DÍEZ, I.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M. Classification of Spanish extra virgin olive oils by data fusion of visible spectroscopic fingerprints and chemical descriptors. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2, p. 915–922, 2013.
- POPEK, S. A procedure to identify a honey type. **Food Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 401–406, nov. 2002.
- POPEK, S.; HALAGARDA, M.; KURSA, K. A new model to identify botanical origin of Polish honeys based on the physicochemical parameters and chemometric analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 482–487, 2017.
- PUTRI, S. P.; YAMAMOTO, S.; TSUGAWA, H.; FUKUSAKI, E. Current metabolomics: Technological advances. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 116, n. 1, p. 9–16, 2013.
- PYRZYNSKA, K.; BIESAGA, M. Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 7, p. 893–902, ago. 2009.
- RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. S. **Biologia da polinização**. 1. ed. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014.
- RIZELIO, V. M.; GONZAGA, L. V.; BORGES, G. da S. C.; MALTEZ, H. F.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Fast determination of cations in honey by capillary electrophoresis: A possible method for geographic origin discrimination. **Talanta**, v. 99, p. 450–456, 2012.
- ROWLAND, C. Y.; BLACKMAN, A. J.; D'ARCY, B. R.; RINTOUL, G. B. Comparison of organic extractives found in leatherwood (*Eucryphia lucida*) honey and leatherwood Flowers and leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 3, p. 753–763, mar. 1995.
- SAK-BOSNAR, M.; SAKAČ, N. A rapid method for the determination of honey diastase activity. **Talanta**, v. 93, p. 135–138, 2012.
- SAKR, M. R.; DALLABRIDA, V. R. Produtos de Santa Catarina com identidade territorial. **Revista de Política Agrícola**, v. 24, n. 3, p. 102–113, 2015.
- SANTOS, D. C.; OLIVEIRA, E. N. A. Características físico-químicas e microbiológicas de méis de *Apis mellifera* L. provenientes de diferentes entrepostos. **Comunicata Scientiae**, v. 4, n. 1, p. 67–74, 2013.
- SANZ, M. L.; GONZALEZ, M.; DE LORENZO, C.; SANZ, J.; MARTÍNEZ-CASTRO, I. A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. **Food Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 313–317, jun. 2005.
- SÂRBU, C.; NAȘCU-BRICIU, R. D.; KOT-WASIK, A.;

- GORINSTEIN, S.; WASIK, A.; NAMIEŚNIK, J. Classification and fingerprinting of kiwi and pomelo fruits by multivariate analysis of chromatographic and spectroscopic data. **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 994–1002, 2012.
- SERGIEL, I.; POHL, P.; BIESAGA, M.; MIRONCZYK, A. Suitability of three-dimensional synchronous fluorescence spectroscopy for fingerprint analysis of honey samples with reference to their phenolic profiles. **Food chemistry**, v. 145, p. 319–26, 15 fev. 2014.
- SILVA, K. D. F. N. L.; QUEIROZ, A. J. de M.; FIQUEIREDO, R. M. F.; SILVA, C. T. S.; MELO, K. dos S. Características físico-químicas de mel produzido em Limoeiro do Norte durante o armazenamento. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 4, p. 246–254, 2009.
- SILVA, P. M.; GAUCHE, C.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309–323, 2016.
- SIMOVA, S.; ATANASSOV, A.; SHISHINIOVA, M.; BANKOVA, V. A rapid differentiation between oak honeydew honey and nectar and other honeydew honeys by NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1706–10, 1 out. 2012.
- SODRÉ, G. da S.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. de C. C.; OTSUK, I. P.; CARVALHO, C. A. L. de. Caracterização físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) do Estado do Ceará. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1139–1144, ago. 2007.
- SON, H. S.; KI, M. K.; VAN DEN BERG, F.; HWANG, G. S.; PARK, W. M.; LEE, C. H.; HONG, Y. S. ¹H nuclear magnetic resonance-based metabolomic characterization of wines by grape varieties and production areas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 8007–8016, 2008.
- SORIA, A. C.; GONZÁLEZ, M.; LORENZO, C. de; MARTÍNEZ-CASTRO, I.; SANZ, J. Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. **Food Chemistry**, v. 85, n. 1, p. 121–130, 2004.
- SORIA, A. C.; MARTÍNEZ-CASTRO, I.; SANZ, J. Estimation of recovery by multistep purge-and-trap gas chromatographic-mass spectrometric analysis of honey volatiles. **Journal of chromatography**, A, v. 1157, n. 1–2, p. 430–436, 20 jul. 2007.
- SORIA, A. C.; MARTÍNEZ-CASTRO, I.; SANZ, J. Some aspects of dynamic headspace analysis of volatile components in honey. **Food Research International**, v. 41, n. 8, p. 838–848, out. 2008.

- SOUTO, U. T. C. P.; PONTES, M. J. C.; SILVA, E. C.; GALVÃO, R. K. H.; ARAÚJO, M. C. U.; SANCHES, F. A. C.; CUNHA, F. A. S.; OLIVEIRA, M. S. R. UV-Vis spectrometric classification of coffees by SPA-LDA. **Food Chemistry**, v. 119, n. 1, p. 368–371, 2010.
- STRUCK-LEWICKA, W.; KORDALEWSKA, M.; BUJAK, R.; YUMBA MPANGA, A.; MARKUSZEWSKI, M.; JACYNA, J.; MATUSZEWSKI, M.; KALISZAN, R.; MARKUSZEWSKI, M. J. Urine metabolic fingerprinting using LC–MS and GC–MS reveals metabolite changes in prostate cancer: A pilot study. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 111, p. 351–361, 2015.
- SUÁREZ-LUQUE, S.; MATO, I.; HUIDOBRO, J. F.; SIMAL-LOZANO, J. Solid-phase extraction procedure to remove organic acids from honey. **Journal of Chromatography B**, v. 770, n. 1–2, p. 77–82, abr. 2002a.
- SUÁREZ-LUQUE, S.; MATO, I.; HUIDOBRO, J. F.; SIMAL-LOZANO, J.; SANCHO, M. T. Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 955, n. 2, p. 207–214, maio 2002b.
- TAN, J.; LI, R.; JIANG, Z.-T.; TANG, S.-H.; WANG, Y.; SHI, M.; XIAO, Y.-Q.; JIA, B.; LU, T.-X.; WANG, H. Synchronous front-face fluorescence spectroscopy for authentication of the adulteration of edible vegetable oil with refined used frying oil. **Food Chemistry**, v. 217, p. 274–280, 2017.
- TEUL, J.; RUPÉREZ, F. J.; GARCIA, A.; VAYSSE, J.; BALAYSSAC, S.; GILARD, V.; MALET-MARTINO, M.; MARTIN-VENTURA, J. L.; BLANCO-COLIO, L. M.; TUÑÓN, J.; EGIDO, J.; BARBAS, C. Improving Metabolite Knowledge in Stable Atherosclerosis Patients by Association and Correlation of GC-MS and ¹H NMR Fingerprints. **Journal of Proteome Research**, v. 8, n. 12, p. 5580–5589, 4 dez. 2009.
- TEZCAN, F.; KOLAYLY, S.; SAHIN, H.; ULUSOY, E.; ERIM, F. B. Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 50, n. 1, p. 33–40, 2011.
- TUZEN, M.; SILICI, S.; MENDIL, D.; SOYLAK, M. Trace element levels in honeys from different regions of Turkey. **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 325–330, jan. 2007.
- UNIÃO EUROPÉIA. Diretiva 2001/110/CE do conselho de 20 de dezembro relativa ao mel. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias**, 2001.
- URBANO, M.; LUQUE DE CASTRO, M. D.; PÉREZ, P. M.;

- GARCÍA-OLMO, J.; GÓMEZ-NIETO, M. A. Ultraviolet–visible spectroscopy and pattern recognition methods for differentiation and classification of wines. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 166–175, 1 jul. 2006.
- VANHANEN, L. P.; EMMERTZ, A.; SAVAGE, G. P. Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. **Food chemistry**, v. 128, n. 1, p. 236–40, 1 set. 2011.
- WANG, L.; HOU, E.; WANG, L.; WANG, Y.; YANG, L.; ZHENG, X.; XIE, G.; SUN, Q.; LIANG, M.; TIAN, Z. Reconstruction and analysis of correlation networks based on GC–MS metabolomics data for young hypertensive men. **Analytica Chimica Acta**, v. 854, p. 95–105, 2015a.
- WANG, S.; GUO, Q.; WANG, L.; LIN, L.; SHI, H.; CAO, H.; CAO, B. Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 172, p. 669–674, 2015b.
- WATANABE, H.; KATAYAMA, N.; YANO, E.; SUGIYAMA, R.; NISHIKAWA, S.; ENDOU, T.; WATANABE, K.; TAKABAYASHI, J.; OZAWA, R. Effects of aphid honeydew sugars on the longevity and fecundity of the aphidophagous gall midge *Aphidoletes aphidimyza*. **Biological Control**, v. 78, p. 55–60, 2014.
- WOLFF, V. R. dos S.; WITTER, S.; LISBOA, B. B. Reporte de *Stigmacoccus paranaensis* Foldi (Hemiptera, Stigmacoccidae), insecto escama asociado con la producción de miel de mielato en Rio Grande do Sul, Brasil. **Insecta Mundi**, n. 434, p. 1–7, 2015.
- WORLEY, B.; POWERS, R. Multivariate Analysis in Metabolomics. **Current Metabolomics**, v. 1, n. 1, p. 92–107, 2013.
- YANG, Y.; KONG, W.; FENG, H.; DOU, X.; ZHAO, L.; XIAO, Q.; YANG, M. Quantitative and fingerprinting analysis of *Pogostemon cablin* based on GC-FID combined with chemometrics. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 121, p. 84–90, 2016.
- YOON, H. J.; LEE, K. Y.; KIM, S. Y.; LEE, Y. B.; KIM, N.; JIN, B. R. Effects of location, direction, altitude, and placement of trap nests on the rate of trap-nesting of *Osmia* solitary bees. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 18, n. 4, p. 695–700, dez. 2015.
- YÜCEL, Y.; SULTANOĞLU, P. Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. **Food Bioscience**, v. 1, p. 16–25, 1 mar. 2013.

**CAPÍTULO 2: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE
MÉIS DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella*
Bentham) E FLORAIS PRODUZIDOS NO PLANALTO
SERRANO DE SANTA CATARINA: UMA ABORDAGEM
VOLTADA PARA A DIFERENCIAÇÃO DE MÉIS**

Esse capítulo foi baseado no artigo intitulado “*Physicochemical characteristics of bracatinga honeydew honey and blossom honey produced in the state of Santa Catarina: An approach to honey differentiation*”, publicado na Revista “*Food Research International*”. ISSN: 0963.9969. (doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.007).

CAPÍTULO 2: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE MÉIS DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham) E FLORAIS PRODUZIDOS NO PLANALTO SERRANO DE SANTA CATARINA: UMA ABORDAGEM VOLTADA PARA A DIFERENCIAÇÃO DE MÉIS

RESUMO

Devido à crescente demanda e interesse dos consumidores pelo mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), torna-se importante conhecer suas características a fim de assegurar a qualidade deste produto. Além disso, é necessário investigar possíveis parâmetros que facilmente possam determinar sua diferenciação de outros méis, garantindo assim sua autenticidade. Nesse contexto, no presente estudo, foram investigadas as características físico-químicas e as propriedades antioxidantes de 16 amostras de mel de melato de bracatinga e de 25 amostras de mel floral de diferentes origens botânicas de Santa Catarina. Os méis de melato de bracatinga foram caracterizados pelos valores elevados de acidez livre, condutividade elétrica, capacidade antioxidante, e baixo teor de glicose, sendo que, especialmente esses parâmetros permitiram a diferenciação entre méis de melato de bracatinga e méis florais a partir da análise quimiométrica dos resultados obtidos.

Palavras-chave: Parâmetros de identidade e qualidade, análise de componentes principais, classificação de méis.

1 INTRODUÇÃO

O mel é um alimento doce composto por macro e micro nutrientes que conferem propriedades nutricionais e medicinais ao produto (KHALIL *et al.*, 2015; KATEEL *et al.*, 2018). O mel produzido em maior abundância é proveniente da espécie *Apis mellifera* e é classificado de acordo com sua origem: floral ou de melato (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002).

Enquanto que os méis florais são produzidos pelas abelhas a partir do néctar das flores, os méis de melato caracterizam-se como um produto obtido a partir de secreções e excreções oriundos de plantas, frutas e insetos (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002). Quando inexistente, ou baixa disponibilidade de flores e néctar, as abelhas utilizam esse recurso para produzir o mel (BERGAMO *et al.*, 2018b).

Os méis de melato são amplamente consumidos, principalmente por consumidores europeus (AZEVEDO *et al.*, 2017; PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017; BERGAMO *et al.*, 2018a) e é nesse mercado que o mel de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Benth) vem sendo inserido. O mel de melato é um produto muito peculiar, produzido predominantemente na região serrana do estado de Santa Catarina, sul do Paraná e norte do Rio Grande do Sul, Brasil, e quase toda a sua produção é exportada (BERGAMO *et al.*, 2018b). A produção só ocorre quando insetos do gênero *Tachardiella* sp. e *Stigmacoccus* sp., popularmente conhecidos como cochonilhas, povoam o caule da bracinga (*Mimosa scabrella* Benth), se alimentam do floema dessa árvore e liberam uma excreção sacarínica que é utilizado pelas abelhas na produção do mel de melato (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015). No entanto, esse período de infestação do inseto na planta, ocorre apenas a cada dois anos, e geralmente nos meses de março a julho (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014), ocasionando uma produção de mel bianual, fenômeno que agrega ainda mais valor ao produto (BERGAMO *et al.*, 2018b).

A fim de estabelecer parâmetros para avaliar a qualidade de cada classe de mel, várias normativas foram definidas, dentre as quais destacam-se os regulamentos previstos pelo Brasil (BRASIL, 2000), *Codex Alimentarius* (CODEX ALIMENTARIUS, 2001) e União Européia (EUROPEAN COMMISSION, 2002). Os principais critérios de interesse são a avaliação da maturidade do mel, avaliado pelos teores

de umidade, açúcares não redutores e redutores; pureza, avaliada principalmente pelos teores de sólidos insolúveis, minerais e condutividade elétrica; e o estado de deterioração avaliado pelos parâmetros de acidez livre, diastase e 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) (BERGAMO *et al.*, 2018b). Ainda, muitos autores já demonstraram que alguns parâmetros físico-químicos podem ser utilizados com sucesso para identificar a origem botânica do mel (POPEK; HALAGARDA; KURSA, 2017) bem como adulterações ocasionadas por adição de xaropes e agentes espessantes (NIKOLOVA *et al.*, 2012; AMIRY; ESMAILI; ALIZADEH, 2017).

Considerando a escassez de informações sobre a composição do mel de melato de bracinga, bem como de méis florais produzidos na região serrana do estado de Santa Catarina, este estudo tem como objetivo investigar as propriedades físico-químicas, capacidade redutora de Folin-Ciocalteu, capacidade redutora de ferro (FRAP), capacidade de desativação do radical 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), enfatizando a diferenciação dessas distintas classes de mel a partir da análise quimiométrica dos dados (BERGAMO *et al.*, 2018b).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras

As amostras de mel de melato de bracatinga e de méis florais foram coletadas aleatoriamente no ano de 2016 em diferentes locais do planalto serrano do estado de Santa Catarina (Brasil) (Tabela 2.1). Méis de melato de bracatinga ($n=16$) foram obtidos de produtores locais, cujos apiários estavam mantidos em áreas com vasta disponibilidade de árvores de bracatinga e nos meses com alta produção de excreções das cochonilhas, a fim de garantir a pureza das amostras. As amostras de méis florais ($n=25$) foram coletados das mesmas localidades e também de regiões próximas às áreas onde os méis de melato de bracatinga foram coletados. Todos os favos coletados, na quantidade de um a dois por apiário, foram acondicionados em caixas térmicas e imediatamente transportados para o Laboratório de Química de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, onde foram drenados e filtrados manualmente. É importante salientar que os méis florais foram colhidos nos meses de menor produção de excreções de cochonilha, a fim de evitar contaminações provenientes dessa substância (BERGAMO *et al.*, 2018b).

Tabela 2.1 – Características botânicas e geográficas das amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) e de méis florais coletadas na região do planalto serrano de Santa Catarina.

Amostra	Tipo de mel	Origem Botânica	Cidade	
M1, M2	Melato	Bracatinga (<i>M. scabrella</i> Benth.)	Bom Retiro	
M3, M4, M5			Bocaina do Sul	
M6, M7			Lages	
M8, M9			São Joaquim	
M10, M11, M12, M13			Urubici	
M14, M15, M16			Urupema	
F1, F2	Floral	Multifloral	Bom Retiro	
F4			<i>Sida</i> sp.	Bom Retiro
F5			Multifloral	São Bonifácio

Continua

Amostra	Tipo de mel	Origem Botânica	Cidade
F6		<i>Citrus sinensis</i> (L.)	São Bonifácio
F7		<i>M. scabrella</i> Benth.	Lages
F8, F9, F10		Multifloral	Lages
F11, F14, F15		Multifloral	São Joaquim
F12		<i>Myrcia multiflora</i>	São Joaquim
F13		<i>Malus domestica</i>	São Joaquim
F16, F17, F18, F19	Floral	Multifloral	Urubici
F20, F23		<i>Clethra scabra</i> Pers.	Urupema
F21		<i>Eucalyptus</i> sp.	Urupema
F22		<i>Sida</i> sp.	Urupema
F24		<i>Citrus sinensis</i> (L.)	Alfrego Wagner
F25		Multifloral	Painel

M – Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham). F – Mel floral.

Fonte: Adaptado de Bergamo *et al.* (2018b).

2.2 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados nos experimentos possuíam grau analítico e os solventes eram de pureza cromatográfica. A água utilizada nos testes e na diluição das amostras foi purificada por deionização (sistema Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, EUA) (BERGAMO *et al.*, 2018b).

Os reagentes D-frutose, L-rhamnose, D-(+)-glicose monohidratada, D-(+)-maltose monohidratada, D-(+)-cellobiose, D-(+)-xilose, D-(+)-rafinose pentahidratada, D-(+)-melezitose hidratada, 5-(hidroximetil) furfural, ácido láctico, 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), 2,4,6-Tri-(2-Piridil)-1,3,5-Triazina (TPTZ), reagente de fenol Folin & Ciocalteu, Brometo de Cetil Trimetilamonio (CTAB), imidazol, ácido ftálico, sacarose, lactose, cafeína, ácido sórbico, amido solúvel, cloreto férrico, sulfato ferroso heptahidratado e metanol foram obtidos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EUA). Os ácidos gálico e ascórbico, iodeto, acetado e cloreto de sódio foram obtidos da Vetec (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Hidróxido de sódio (NaOH), dodecil sulfato de sódio (SDS), tetraborato dissódico decahidratado (STB), ácido acético e carbonato de sódio foram adquiridos da Merck (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (BERGAMO *et al.*, 2018b).

2.3 Características Físico-Químicas

2.3.1 Umidade

A umidade do mel foi determinada por um refratômetro de Abbe. Todas as medições foram realizadas a 20 °C e a umidade correspondente foi obtida a partir da Tabela 969.38 (AOAC, 2005).

2.3.2 Carboidratos

A determinação dos carboidratos foi realizada de acordo com o método proposto por Rizelio *et al.* (2012b), com modificações (BERGAMO *et al.*, 2018b). Resumidamente, uma massa de aproximadamente 0,5 g de mel foram dissolvidas em água ultrapura em um balão volumétrico com capacidade para 10 mL e, a seguir, o volume foi completado. A solução da amostra foi centrifugada em uma micro centrífuga MiniSpin Plus[®] (Eppendorf AG, Suffolk, NY, EUA) à 14.000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi diluído na proporção de 9:1 (v / v, amostra: padrão interno na concentração final de 1,71 g L⁻¹ de lactose). Diluições subsequentes do sobrenadante foram realizadas quando necessário. Após o procedimento descrito, esta solução foi injetada no equipamento de eletroforese capilar (modelo 7100, Agilent Technologies, Alemanha), equipado com um detector de arranjo de diodos, no comprimento de onda de 230 nm (detecção indireta, com referência em 360 nm para inversão do pico eletroforético), e temperatura mantida a 25 °C. Foram utilizados capilares revestidos com sílica fundida, com 90,0 cm de comprimento total, sendo 81,5 cm de comprimento efetivo e 50 µm de diâmetro interno. O BGE foi composto por 30 mmol L⁻¹ de ácido ftálico, 1,5 mmol L⁻¹ de CTAB e 100 mmol L⁻¹ de NaOH, pH de 12,45. Diariamente, antes do início das análises o capilar foi condicionado com NaOH na concentração de 1 mol L⁻¹ (15 min) seguido de água ultra-pura (15 min) e solução de BGE (20 min). Soluções padrão e amostras de mel foram introduzidas na extremidade do capilar mais distante do detector e injetadas usando pressão hidrodinâmica positiva (50 mbar por 3 s). A tensão de separação aplicada foi de -20 kV e o capilar foi reconicionado entre as injeções com a solução de BGE por 2 minutos.

2.3.3 pH, Acidez Livre e Acidez Lactônica

O pH, a acidez livre e a acidez em lactona foram determinados pelo método 962.19 da AOAC (AOAC, 2005) em que aproximadamente 10 g de mel foram dissolvidas em 75 mL de água deionizada. O procedimento decorreu da seguinte forma: o pH da solução foi verificado e em seguida foi titulada com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ até o pH final de 8.5. Após esse processo, 10 mL de NaOH 0.1 M foram imediatamente adicionados a solução que foi posteriormente titulada com uma solução de CH₃COOH 0.1 mol L⁻¹ até o pH final de 8.2. As medições foram obtidas a partir do pHmetro MD-20 (Digimed, Brazil).

2.3.4 Atividade Diastásica

A atividade diastásica foi mensurada de acordo com o método 920.180 proposto pela AOAC (AOAC, 2005). Uma solução tamponada de amido com mel foi mantida em banho-maria a 40 °C pelo tempo necessário para obter uma absorvância igual ou menor que 0,235. A partir dos valores obtidos construiu-se um gráfico de absorvância *versus* tempo para o cálculo t_x e a atividade diastásica foi então obtida pelo quociente $300 / t_x$. O resultado foi expresso em unidades de Shade.

2.3.5 Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica foi determinada de acordo com o método recomendado por Bogdanov *et al.* (1999). Uma solução de mel a 20 % (m/v) foi diluída em água ultrapura a 25 °C e a condutividade foi imediatamente verificada em um condutivímetro modelo Tec-4MP (TECNAL, São Paulo, Brasil). Os resultados foram expressos em mS cm⁻¹.

2.3.6 5-Hidroximetilfurfural

A avaliação do composto 5-HMF foi conduzida por meio de injeção em um equipamento de eletroforese capilar equipado com detector de arranjo de diodos, de acordo com o método proposto por Rizelio *et al.* (2012a). Todas as separações foram realizadas em temperatura de 25 °C, capilar de sílica fundida não revestida (Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, EUA) de 32,0 cm de comprimento total (8,5 cm de comprimento x 50 µm de diâmetro interno) utilizando

eletrólito de corrida (BGE) composto por 5 mmol L⁻¹ de TBS (tetraborato de sódio) e 120 mmol L⁻¹ SDS, com pH 9,3. O capilar foi condicionado com BGE por 1 min entre as corridas. Amostras e soluções padrão foram injetadas hidrodinamicamente com pressão negativa de 50 mbar por 3 s. A tensão de separação aplicada foi de 30 kV com polaridade positiva na extremidade de injeção, com detecção em 284 nm. A cafeína foi utilizada como padrão interno (200 mg L⁻¹). Os resultados foram expressos em mg kg⁻¹ e calculados a partir de uma curva de calibração com padrão de 5-HMF, em cinco níveis equidistantes, de concentração que variou de 10 mg L⁻¹ a 80 mg L⁻¹.

2.3.7 Capacidade de redução de ferro (FRAP), de Folin-Ciocalteu e de desativação do radical 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Para avaliação da capacidade de redução e da atividade de desativação do radical DPPH, foram pesadas aproximadamente 0,5 g de mel e em seguida dissolveu-se em água ultrapura na proporção 1:3 (m/v). Quando necessário, diluições adicionais foram realizadas (BERGAMO *et al.*, 2018b).

A capacidade de redução das amostras foi avaliada a partir do poder redutor férrico (FRAP) de acordo com Benzie e Strain (1996), com modificações (BERTONCELJ *et al.*, 2007). O reagente de FRAP foi preparado a partir de 300 mmol L⁻¹ de tampão acetato de sódio (pH 3,6), 10 mmol L⁻¹ de solução TPTZ em 40 mmol L⁻¹ HCl e 20 mmol L⁻¹ de solução de cloreto férrico, na proporção de 10:1:1 (v/v/v), respectivamente. Uma alíquota de 400 µL da amostra previamente diluída foi cuidadosamente misturada com 3,6 mL de reagente FRAP. Estas misturas foram mantidas em banho-maria a 37 °C por 10 minutos e, em seguida, a absorbância foi determinada a 593 nm utilizando um espectrofotômetro UV-visível. A curva padrão foi elaborada em sete níveis de concentração de sulfato ferroso heptahidratado (20 a 300 µmol L⁻¹) e os resultados foram expressos em µmol Fe⁺² 100 g⁻¹.

A capacidade redutora total das amostras foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999) onde uma alíquota de 2,0 mL de água foi misturada com 100 µL de amostra, previamente diluída em um balão de 10 mL. Na sequência, 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu foram adicionados à mistura e, passados 2 minutos, 1,5 mL de solução de carbonato de sódio 20% (m/v) foram adicionados ao sistema. A seguir, o volume final foi completado com água deionizada e este sistema foi mantido no escuro a

temperatura ambiente, durante 120 min. Os resultados foram calculados usando uma curva de calibração de ácido gálico em sete níveis de concentração (20 a 300 mg L⁻¹) e os resultados expressos em mg de ácido gálico equivalente (AGE) 100 g⁻¹.

A capacidade de desativação do radical 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) das amostras foi determinada de acordo com Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com algumas modificações (DAE-OK KIM *et al.*, 2002). Primeiramente, a absorbância de alíquotas de 2,9 mL da solução do radical DPPH (0,1 mmol L⁻¹ em metanol a 80 %) foi medida em 515 nm ($t = 0$ min) usando um espectrofotômetro UV-Visível. Na sequência, foram adicionados 100 µL da amostra (previamente diluída) e este sistema foi misturado. A mistura foi mantida no escuro em temperatura ambiente, durante 30 minutos e a absorbância foi determinada em 515 nm ($t = 30$ min). A capacidade de eliminação das amostras foi calculada como (%) inibição = $[1 - (\text{Absorbância da amostra } t = 30 \text{ min} / \text{Absorbância da solução de DPPH } t = 0 \text{ min}) \times 100]$ e os resultados expressos como mg equivalentes de ácido ascórbico (AAE) 100 g⁻¹ através de uma curva padrão de ácido ascórbico (20 mg L⁻¹ - 120 mg L⁻¹, com seis níveis de concentração).

2.4 Análise Estatística

Os ensaios foram realizados a partir de três experimentos independentes ($n=3$) para cada amostra, e os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. A Análise de Componentes Principais (PCA) foi utilizada para explicar e interpretar a interdependência dos dados. O “software” Paleontological Statistics[®] (Past) versão 2.16 foi utilizado para realizar as análises estatísticas.

3 RESULTADOS

3.3 Maturidade do mel

Um dos fatores observados como padrão de identidade e qualidade do mel é a maturidade do produto avaliado, principalmente, a partir dos teores de umidade, açúcares redutores e sacarose. Os resultados obtidos referentes a esses parâmetros estão demonstrados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Teor de umidade e carboidratos em méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) e florais.

Amostra	Umidade (g 100 g ⁻¹)	Frutose (g 100 g ⁻¹)	Glicose (g 100 g ⁻¹)	Sacarose (g 100 g ⁻¹)	Maltose (g 100 g ⁻¹)	Frutose + Glicose (g 100 g ⁻¹)	F / G	G / M
M1	16,80±0,00	36,47±0,33	22,12±0,16	<LOD	3,97±0,08	58,59±0,49	1,65	1,32
M2	18,40±0,00	36,26±0,67	23,34±1,03	<LOD	2,84±0,01	59,60±0,36	1,55	1,27
M3	16,13±0,23	35,65±0,81	21,69±0,02	<LOD	3,85±0,16	57,33±0,79	1,64	1,34
M4	16,67±0,23	36,68±0,56	24,15±0,35	<LOD	2,53±0,02	60,83±0,18	1,52	1,45
M5	16,53±0,23	38,29±1,58	21,51±0,17	<LOD	2,73±0,06	59,80±1,41	1,78	1,3
M6	18,13±0,24	37,64±0,73	24,92±0,37	<LOD	3,48±0,01	59,64±0,53	1,51	1,37
M7	16,80±0,00	35,31±1,58	24,25±0,68	<LOD	1,87±0,06	62,55±0,36	1,46	1,44
M8	15,60±0,00	36,33±0,83	24,79±0,39	<LOD	<LOD	61,12±1,22	1,47	1,59
M9	16,13±0,23	33,43±2,52	20,84±0,06	<LOD	3,68±0,06	54,27±2,46	1,6	1,29
M10	16,93±0,23	41,07±0,90	22,58±0,76	<LOD	2,28±0,05	63,65±1,66	1,82	1,33
M11	16,26±0,23	36,37±0,04	20,98±0,39	<LOD	2,75±0,00	57,36±0,42	1,73	1,29
M12	16,80±0,00	35,72±1,55	25,18±0,14	<LOD	<LOD	60,90±1,40	1,42	1,5
M13	15,20±0,00	36,23±0,11	21,72±0,67	<LOD	3,48±0,06	57,95±0,56	1,67	1,43
M14	16,80±0,00	37,31±1,27	26,38±0,12	<LOD	2,91±0,00	63,69±1,15	1,41	1,57
M15	16,13±0,23	36,17±2,34	24,29±0,46	<LOD	3,22±0,05	60,46±1,88	1,49	1,51
M16	16,27±0,23	35,82±0,97	24,48±1,16	<LOD	3,07±0,23	60,29±0,19	1,46	1,5
F1	18,27±0,23	38,02±1,09	33,87±1,04	0,75±0,06	2,65±0,05	71,90±2,13	1,12	1,85

Continua

Amostra	Umidade (g 100 g ⁻¹)	Frutose (g 100 g ⁻¹)	Glicose (g 100 g ⁻¹)	Sacarose (g 100 g ⁻¹)	Maltose (g 100 g ⁻¹)	Frutose + Glicose (g 100 g ⁻¹)	F / G	G / U
F2	17,20±0,00	42,66±0,88	32,98±0,71	<LOD	<LOD	75,65±0,17	1,29	1,92
F3	17,00±0,00	36,67±1,75	34,47±1,04	<LOD	<LOD	71,13±0,71	1,06	2,03
F4	17,60±0,00	39,95±0,51	35,21±0,82	0,73±0,05	1,64±0,04	75,16±0,30	1,13	2,00
F5	18,67±0,12	37,41±1,58	33,96±0,85	0,77±0,04	1,78±0,11	71,37±2,43	1,10	1,82
F6	18,00±0,00	35,28±1,58	32,00±1,44	1,10±0,07	1,87±0,01	67,28±3,01	1,10	1,78
F7	17,79±0,00	38,47±0,10	36,06±2,09	<LOD	<LOD	74,53±1,99	1,07	2,03
F8	17,20±0,00	38,59±0,71	34,02±2,04	<LOD	1,70±0,09	72,61±2,75	1,13	1,98
F9	17,00±0,00	37,26±2,29	32,31±1,20	1,07±0,06	1,88±0,09	69,57±3,49	1,15	1,9
F10	16,00±0,00	40,43±0,22	33,87±0,36	<LOQ	1,74±0,05	74,30±0,58	1,19	2,12
F11	19,60±0,00	38,78±0,27	36,08±0,56	0,97±0,04	<LOD	74,80±0,58	1,07	1,84
F12	16,60±0,00	34,78±0,48	31,31±0,78	3,32±0,05	4,67±0,06	66,09±1,26	1,11	1,89
F13	18,40±0,00	33,42±0,85	31,65±1,01	0,90±0,01	1,85±0,05	65,08±1,86	1,06	1,72
F14	18,40±0,00	36,97±0,39	28,60±0,09	<LOD	<LOD	65,56±0,47	1,29	1,55
F15	18,80±0,00	42,34±0,96	35,21±0,81	1,64±0,04	<LOD	77,55±0,15	1,20	1,87
F16	18,00±0,00	36,99±0,06	32,94±0,70	<LOD	<LOD	69,92±0,64	1,12	1,83
F17	17,20±0,00	39,88±0,22	31,66±1,12	1,16±0,04	<LOD	71,54±0,91	1,26	1,84
F18	16,60±0,00	34,40±0,32	30,85±0,41	<LOQ	1,96±0,04	65,32±0,09	1,12	1,86

Continuação

Amostra	Umidade (g 100 g ⁻¹)	Frutose (g 100 g ⁻¹)	Glicose (g 100 g ⁻¹)	Sacarose (g 100 g ⁻¹)	Maltose (g 100 g ⁻¹)	Frutose + Glicose (g 100 g ⁻¹)	F / G	G / U
F19	17,20±0,00	38,03±1,31	34,26±1,77	<LOD	<LOD	72,29±3,08	1,11	1,99
F20	17,60±0,00	37,08±1,23	33,55±0,10	<LOD	1,59±0,06	70,63±1,33	1,11	1,91
F21	19,93±0,00	36,42±0,00	33,12±0,83	1,05±0,02	0,96±0,08	69,54±0,83	1,10	1,66
F22	19,98±0,00	35,09±1,06	33,65±1,24	<LOD	<LOD	68,74±2,29	1,04	1,68
F23	17,73±0,23	37,98±0,72	30,24±0,96	<LOD	2,28±0,16	68,05±0,24	1,26	1,71
F24	19,00±0,35	38,73±1,74	35,52±0,12	<LOD	<LOD	74,25±1,63	1,09	1,87
F25	18,33±0,23	41,83±0,85	33,22±0,78	<LOD	<LOD	75,04±0,07	1,26	1,81

Conclusão

Legenda: M – Mel de melato de bracinga. F – Mel floral. U – Umidade. F – Frutose. G – Glicose. LOD - Limite de detecção da sacarose $0,137 \pm 0,022$ g 100g⁻¹ e maltose $0,137 \pm 0,020$ g 100g⁻¹. LOQ – Limite de quantificação da sacarose $0,342 \pm 0,025$ g 100 g⁻¹. F/G – Razão Frutose/Glicose. F/M – Razão Glicose/Umidade.

Fonte: Adaptado de Bergamo *et al.* (2018b).

Com relação a umidade dos méis, todas as amostras avaliadas nesse estudo apresentaram valores abaixo de 20 % (de 15 g 100g⁻¹ a 20 g 100g⁻¹), estando dentro dos limites estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* (CODEX ALIMENTARIUS, 2001). Geralmente, a umidade não tem relação com a origem botânica do mel e sim com condições inadequadas de extração e processamento, bem como o clima da região de colheita. Esses fatores foram observados por Escriche *et al.* (2017) onde a maioria das amostras de mel oriundas de Moçambique, África, apresentaram altos teores de umidade (16,6 g 100g⁻¹ a 23,3 g 100g⁻¹). Teores de umidade acima de 20 % favorecem o desenvolvimento de processos fermentativos no mel (OROIAN, 2012; FECHNER *et al.*, 2016) e o crescimento de leveduras osmofílicas (ESCRICHE *et al.*, 2017), propiciando a rápida deterioração do produto.

A frutose e a glicose são os principais açúcares encontrados no mel, sendo formados principalmente pela redução da sacarose por enzimas depositadas no mel pelas abelhas (SILVA *et al.*, 2016). De acordo com organizações reguladoras internacionais (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002), o mel deve conter um teor mínimo de glicose de 45 g 100 g⁻¹ em méis de melato e um mínimo de 60 g 100 g⁻¹ em méis de origem floral. Neste estudo, todas as amostras de mel avaliadas apresentaram os limites mínimos exigidos, variando de 54,27 g 100 g⁻¹ a 63,69 g 100 g⁻¹ e 65,08 g 100 g⁻¹ a 77,55 g 100 g⁻¹ para méis de melato e florais, respectivamente. Avaliando os méis espanhóis, Juan-Borrás *et al.* (2017) também encontraram níveis mais baixos de frutose + glicose em méis de melato (64 g 100 g⁻¹ a 74 g 100 g⁻¹) quando comparados aos méis oriundos de flores (71 g 100 g⁻¹ a 82 g 100 g⁻¹). Resultados semelhantes também foram relatados por Nayik e Nanda (2015) ao avaliar méis de melato e florais da Índia (médias de 66,24 g 100 g⁻¹ a 72,81 g 100 g⁻¹ e 60,60 g 100 g⁻¹, respectivamente).

Em geral, tanto os méis de melato quanto os méis florais avaliados nesse capítulo possuem quantidades semelhantes de frutose (35,81 g 100 g⁻¹ a 41,07 g 100 g⁻¹ e 33,42 g 100 g⁻¹ a 42,66 g 100 g⁻¹, respectivamente). No entanto, para a glicose, menores concentrações foram observadas para méis de melato (20,83 g 100 g⁻¹ a 26,38 g 100 g⁻¹) em comparação aos méis florais (30,23 g 100 g⁻¹ a 36,07 g 100 g⁻¹). Essa tendência também foi observada por Chakir *et al.* (2016) e Terrab *et al.* (2003) em méis provenientes do Marrocos e por Escuredo *et al.* (2014) em méis oriundos da Espanha e Romênia.

Segundo Manikis e Thrasivoulou (2001), méis com valores de glicose abaixo de 30 % comumente exibem cristalização lenta. Em geral, a tendência de cristalização dos méis pode ser avaliada com base na razão frutose/glicose (F/G) e na razão glicose/umidade (G/U). A glicose é menos solúvel em água quando comparada à frutose (NASCIMENTO *et al.*, 2018) com forte tendência à precipitação, formando cristais (RODRÍGUEZ *et al.*, 2004). Com base nessa característica, valores $\leq 1,14$ para a relação F/G sugerem a ocorrência de cristalização do mel, enquanto que proporções \geq que 1,33 indicam um processo de cristalização lento (SMANALIEVA; SENGE, 2009). A ocorrência do processo de cristalização também pode ser estimada pela razão G/U. Segundo Dobre *et al.* (2012), valores $\leq 1,7$ para tal relação indicam lentidão ou ausência de cristalização. Por outro lado, valores \geq que 2,0 sugerem cristalização rápida. Neste estudo, todas as amostras de mel de melato apresentaram razões acima de 1,33 para a relação F/G e abaixo de 1,7 para a relação G/U, indicando a ocorrência de um lento ou até mesmo nenhum processo de cristalização nestas amostras, característica considerada peculiar a essa classe de mel (BERGAMO *et al.*, 2018b). Para méis florais, a maioria das amostras apresentou razões abaixo de 1,14 para a relação F/G e próximo a 2,0 para a relação G/U, sugerindo cristalização mais acelerada desses méis (BERGAMO *et al.*, 2018b). A formação de cristais modifica a textura do produto e, como consequência, resulta geralmente em menor aceitação pelos consumidores (CAVIA *et al.*, 2007). Portanto, essa característica também contribui para a boa aceitação do mel da bracatinga (BERGAMO *et al.*, 2018b).

A sacarose é outro carboidrato que apresenta importância na constituição do mel, sendo que valores elevados desse açúcar indicam maturação incompleta (ESCRICHE *et al.*, 2017) e também podem sugerir adulteração com açúcares comerciais. Para méis em geral, é estabelecido um limite máximo de 5 g 100 g⁻¹ para este carboidrato (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002) e, sendo assim, todas as amostras de mel avaliadas nesse estudo estavam de acordo com o estabelecido (BERGAMO *et al.*, 2018b). Para os méis de melato, os teores de sacarose ficaram abaixo do limite de detecção do método (0,137 g 100 g⁻¹) e para os méis florais, os valores variaram de abaixo do limite de detecção a 3,32 g de 100 g⁻¹ (BERGAMO *et al.*, 2018b). Estes valores estão de acordo com os relatados por Terrab *et al.* (2003), Oroian (2012) e Can *et al.* (2015), que, da mesma forma, não detectaram sacarose em mel de melato do

Marrocos, Romênia e Turquia, respectivamente. O baixo teor de sacarose também foi encontrado nos méis de melato e florais da Espanha e Romênia, variando de $0,1 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $0,9 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e $0,01 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $3,4 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente (ESCUREDO *et al.*, 2014).

Dos demais açúcares investigados nas amostras de mel (xilose, raffionose, ramnose, celobiose, maltose e melezitose), apenas a maltose foi encontrada. Nas amostras de mel de melato, os valores variaram de $1,87 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $3,97 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e, nos méis florais, os valores correspondentes apresentaram-se abaixo do limite de detecção ($0,137 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) até $4,67 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ (BERGAMO *et al.*, 2018b). Embora seja considerado um carboidrato minoritário, alguns autores têm relatado a presença desse açúcar em méis de diferentes origens botânicas (TERRAB *et al.*, 2003; ESCUREDO *et al.*, 2014; CAN *et al.*, 2015; SALONEN *et al.*, 2017). Em méis de melato e florais provenientes da Turquia, Can *et al.* (2015) encontraram valores de maltose variando de $0,19 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $0,54 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e de $0,13 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $1,05 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente; representando menos de 1 % do total de açúcares investigados.

3.4 Pureza e Deterioração do Mel

A pureza do mel e sua possível deterioração podem ser avaliadas especialmente de acordo com seus valores de condutividade elétrica, acidez livre, 5-HMF e diastase (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002). Na Tabela 2.3 são apresentados os resultados encontrados para estes parâmetros, além da acidez em lactona e valores de pH em mel de melato de bracinga e florais.

Tabela 2.3 – Condutividade elétrica, acidez, pH, 5-hidroximetilfurfural e atividade diastásica das amostras de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) e florais.

Amostra	Condutividade Elétrica (mS cm ⁻¹)	Acidez Livre (meq kg ⁻¹)	Acidez em Lactona (meq kg ⁻¹)	pH	5-HMF (mg kg ⁻¹)	Atividade Diastásica (Unidade Schade)
M1	1,20±0,02	49,04±0,35	2,18±0,34	5,03±0,15	<LOD	16,80±0,15
M2	1,24±0,02	54,94±0,27	2,41±0,01	4,85±0,01	<LOD	15,04±0,46
M3	1,58±0,00	51,81±0,20	8,50±0,36	4,78±0,01	<LOD	12,04±0,57
M4	1,45±0,01	49,69±0,10	7,14±0,04	4,82±0,01	<LOD	12,53±0,49
M5	1,57±0,07	45,91±0,11	7,54±0,18	4,85±0,01	<LOD	16,19±0,57
M6	1,14±0,02	54,87±1,39	13,61±0,58	4,39±0,01	<LOD	17,04±0,66
M7	1,31±0,02	50,59±1,44	8,78±0,45	4,62±0,01	<LOD	9,16±0,12
M8	1,40±0,01	43,61±0,76	7,12±0,37	4,85±0,01	<LOD	11,06±0,39
M9	1,65±0,02	47,95±1,15	5,19±0,14	5,02±0,01	<LOD	15,21±0,18
M10	1,07±0,80	48,07±1,49	7,98±0,40	4,79±0,01	<LOD	8,20±0,15
M11	1,37±0,03	43,58±1,47	7,11±0,38	5,02±0,06	<LOD	10,59±0,23
M12	1,42±0,03	53,12±1,82	7,26±0,18	4,80±0,01	<LOD	14,00±0,30
M13	1,18±0,01	42,45±0,00	2,18±0,34	5,13±0,01	<LOD	9,48±0,45
M14	1,49±0,01	51,16±0,82	9,07±0,41	4,73±0,03	<LOD	20,59±0,51
M15	1,69±0,03	55,66±1,22	9,63±0,02	4,81±0,01	<LOD	15,81±0,56

Continua

Amostra	Condutividade Elétrica (mS cm ⁻¹)	Acidez Livre (meq kg ⁻¹)	Acidez em Lactona (meq kg ⁻¹)	pH	5-HMF (mg kg ⁻¹)	Atividade Diastásica (Unidade Schade)
M16	1,78±0,01	48,41±0,57	8,54±0,38	4,81±0,01	<LOD	15,69±0,74
F1	0,41±0,00	27,61±0,22	8,28±0,22	4,01±0,01	<LOD	14,87±0,53
F2	0,51±0,01	25,40±0,63	11,33±0,51	4,14±0,01	<LOD	6,47±0,21
F3	0,49±0,00	19,28±0,35	6,30±0,68	4,74±0,08	<LOD	21,78±1,27
F4	0,33±0,00	17,79±0,33	9,92±0,35	4,40±0,11	<LOD	16,31±0,45
F5	0,31±0,01	22,20±1,03	6,30±0,69	4,32±0,01	14,4±0,71	6,63±0,03
F6	0,16±0,00	18,80±0,34	7,76±0,69	3,80±0,04	9,92±0,22	3,53±0,12
F7	0,72±0,00	11,71±0,00	3,15±0,34	5,29±0,01	<LOD	15,03±0,31
F8	0,34±0,00	15,62±0,69	5,82±0,00	4,52±0,01	<LOD	19,50±0,99
F9	0,39±0,00	19,28±0,35	7,27±0,00	4,43±0,0	<LOD	17,29±0,63
F10	0,34±0,00	15,62±0,69	5,82±0,00	4,61±0,0	<LOD	15,07±0,61
F11	0,59±0,00	32,72±0,00	8,00±0,34	4,36±0,01	10,81±0,3	12,18±0,37
F12	0,23±0,00	13,91±0,34	7,03±0,34	4,30±0,01	<LOD	7,93±0,15
F13	0,48±0,01	24,08±0,56	7,76±0,48	4,37±0,04	38,02±1,51	4,18±0,02
F14	0,55±0,00	22,94±0,70	7,27±0,00	4,58±0,02	14,13±0,81	12,64±0,4
F15	0,36±0,00	14,14±0,67	3,04±0,19	4,68±0,09	<LOD	27,44±1,30
F16	0,36±0,01	16,60±1,19	8,24±0,00	4,39±0,01	<LOD	13,48±0,40

Amostra	Condutividade Elétrica (mS cm ⁻¹)	Acidez Livre (meq kg ⁻¹)	Acidez em Lactona (meq kg ⁻¹)	pH	5-HMF (mg kg ⁻¹)	Atividade Diastásica (Unidade Schade)
F17	0,34±0,00	16,35±1,03	8,24±0,68	4,46±0,0	<LOD	16,28±0,12
F18	0,37±0,00	12,94±0,34	6,55±0,34	4,65±0,04	<LOD	10,07±0,41
F19	0,67±0,02	23,92±1,46	7,59±0,28	4,65±0,02	<LOD	18,05±0,57
F20	0,67±0,02	29,34±0,07	14,54±0,74	4,24±0,01	<LOD	14,55±0,41
F21	1,04±0,01	41,70±1,24	16,95±0,93	4,04±0,01	<LOD	5,75±0,14
F22	0,67±0,02	25,83±1,17	7,54±0,18	4,44±0,01	<LOD	6,43±0,20
F23	0,64±0,01	27,57±0,24	13,01±0,63	4,26±0,00	<LOD	14,63±0,51
F24	0,63±0,01	29,03±1,04	10,66±0,68	4,30±0,00	16,17±0,79	6,56±0,17
F25	0,29±0,00	14,15±0,69	6,06±0,34	4,40±0,06	<LOD	15,05±0,68

Conclusão

Legenda: M – Mel de melato de bracinga. F – Mel Floral. 5-HMF: 5-hidroximetilfurfural. LOD - Limite de detecção de 5-HMF = 3,37 mg kg⁻¹.

Fonte: Adaptado de Bergamo *et al.* (2018b).

A condutividade elétrica pode estar relacionada à pureza do mel, uma vez que este parâmetro tem sido fortemente associado com o teor de cinzas, minerais e acidez dos méis (OROIAN *et al.*, 2017). Durante o processamento, o mel pode ser exposto a minerais por meio do contato com equipamentos e utensílios, aumentando os índices de condutividade elétrica (OROIAN *et al.*, 2017). Além disso, contaminações entre as origens botânicas também podem ocorrer, elevando ou diminuindo os valores obtidos para esse parâmetro (BERGAMO *et al.*, 2018b). Sendo assim, estabelece-se um valor mínimo de $0,8 \text{ mS cm}^{-1}$ para os méis de melato e um valor máximo de $0,8 \text{ mS cm}^{-1}$ para os méis florais (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002). Todas as amostras de mel avaliadas estavam de acordo com os limites estabelecidos. Apenas a amostra de mel floral F21 apresentou elevada condutividade elétrica ($1,14 \text{ mS cm}^{-1}$), no entanto, a mesma se enquadra nos limites estabelecidos pela legislação, que abre exceções para méis florais oriundos de *Eucalyptus* sp. por terem reconhecidamente uma condutividade elétrica elevada, quando comparado a outros méis florais. Para os demais méis de melato e florais, os valores variaram de $1,07 \text{ mS cm}^{-1}$ a $1,78 \text{ mS cm}^{-1}$ e de $0,16 \text{ mS cm}^{-1}$ a $0,72 \text{ mS cm}^{-1}$; respectivamente (BERGAMO *et al.*, 2018b). Esses valores estão de acordo com os encontrados por Oroian *et al.* (2017), que também relataram valores mais elevados de condutividade elétrica em méis de melato quando comparados aos florais oriundos da Romênia ($0,92 \text{ mS cm}^{-1}$ a $1,01 \text{ mS cm}^{-1}$ e $0,11 \text{ mS cm}^{-1}$ a $0,65 \text{ mS cm}^{-1}$, respectivamente).

A acidez presente no mel parece ser fortemente influenciada pela presença de ácidos orgânicos e suas correspondentes lactonas, que podem ser oriundos do néctar ou da fonte de exsudato utilizada na produção do mel (MENDES *et al.*, 2009; FRÖSCHLE *et al.*, 2018). Além disso, os ácidos orgânicos também podem ser derivados da fermentação de alguns açúcares por leveduras, como o ácido acético (CHIRIFE *et al.*, 2006; CAVIA *et al.*, 2007; BUENO-COSTA *et al.*, 2016), ou de vias enzimáticas como o ácido glucônico, que é convertido a partir da glicose pela ação da enzima glicose oxidase (NANDA *et al.*, 2003; DOMINGUEZ *et al.*, 2016). Esses ácidos orgânicos e suas correspondentes lactonas, ésteres e íons inorgânicos (como fosfatos, sulfatos e cloretos) representam a acidez livre e lactônica presente no mel (FRÖSCHLE *et al.*, 2018). O nível máximo de acidez livre permitido nos méis é de 50 meq kg^{-1} (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEAN

COMMISSION, 2002) enquanto que para acidez lactônica não há limite preconizado.

Para todos os méis florais avaliados, foram verificados valores inferiores a 50 meq kg^{-1} , variando de $11,71 \text{ meq kg}^{-1}$ a $41,70 \text{ meq kg}^{-1}$ (BERGAMO *et al.*, 2018b). No entanto, para a maioria das amostras de mel de melato de bracatinga investigados, os valores excederam ou atingiram valores muito próximos do máximo permitido, variando de $42,45 \text{ meq kg}^{-1}$ a $55,66 \text{ meq kg}^{-1}$ (BERGAMO *et al.*, 2018b). Conforme relatado por Manzanares *et al.* (2011), méis de melato geralmente apresentam valores de acidez mais altos em comparação aos méis florais. Esses resultados também foram demonstrados por Terrab *et al.*, (2003), que encontraram valores de acidez livre que variaram de $61,53 \text{ meq kg}^{-1}$ a $102,20 \text{ meq kg}^{-1}$ em méis de melato marroquinos. Portanto, a elevada acidez livre encontrada nos méis de melato de bracatinga parece ser uma característica específica desse tipo de mel.

Para os méis de melato e florais investigados, a acidez lactônica variou de $2,18 \text{ meq kg}^{-1}$ a $13,67 \text{ meq kg}^{-1}$ e $3,04 \text{ meq kg}^{-1}$ a $16,95 \text{ meq kg}^{-1}$, respectivamente.

Embora nenhum limite seja definido por organizações regulatórias para valores de pH, alguns autores consideram um parâmetro útil para indicar a deterioração de méis por contaminação de origem microbiana (CONTI, 2000; TERRAB *et al.*, 2004). Em geral, os méis frescos apresentam valores de pH abaixo de 5,5 (MANZANARES *et al.*, 2011; CHAKIR *et al.*, 2016). O pH das amostras de mel avaliadas neste estudo variou de 4,39 a 5,13 para méis de melato e 3,80 para 5,29 para méis florais (BERGAMO *et al.*, 2018b).

O 5-HMF é um produto de degradação originado da transformação dos açúcares presentes no mel (MELO *et al.*, 2003), que é formado lentamente durante o armazenamento ou acelerado se o produto for aquecido (FECHNER *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2016). Portanto, este composto pode ser originado após o produto ser submetido a uma fonte de calor ou simplesmente pela ação do tempo. Por este motivo, tem sido utilizado como parâmetro de deterioração do mel, sendo considerado como um bom indicador de armazenamento prolongado e / ou aquecimento do mel. Um valor máximo de 40 mg kg^{-1} para méis (de melato e florais), em geral, é estabelecido para o 5-HMF (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEANCOMMISSION, 2002). Ainda, exceções são concedidas a países ou regiões de clima tropical onde o máximo permitido é de 80 mg kg^{-1} (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EUROPEANCOMMISSION,

2002). Considerando o teor de 5-HMF encontrado para os méis de melato (abaixo do limite de detecção) e para os méis florais (valor máximo de 38,02 mg kg⁻¹) avaliados neste estudo (BERGAMO *et al.*, 2018b), todas as amostras estavam de acordo com o limite estabelecido.

A atividade diastásica é um termo utilizado para se referir a enzimas (principalmente α e β -amilase) que catalisam a quebra do amido em maltose e outros oligossacarídeos (SAK-BOSNAR; SAKAČ, 2012; SILVA *et al.*, 2016), que são provenientes do néctar, exsudato e as próprias abelhas (AHMED *et al.*, 2012). Por ser sensível ao calor e longos períodos de armazenamento, a atividade diastásica pode significar um possível superaquecimento do produto, acima de 60 °C, bem como um período prolongado de armazenamento (GOIS *et al.*, 2013; YÜCEL; SULTANOĞLU, 2013; FECHNER *et al.*, 2016). Nas amostras de méis investigadas, a atividade diastásica variou de 8,20 a 20,59 unidades Shade e 3,53 a 27,44 unidades Shade para mel de melato e mel floral, respectivamente (BERGAMO *et al.*, 2018b). Das amostras de méis florais que apresentaram baixa atividade diastásica, abaixo de 8 unidades Shade, F6, F13 e F24 são méis cítricos que naturalmente possuem baixa atividade enzimática, como já relatado no estudo de Yücel (2013). As outras amostras (F2, F5, F12, F21 e F22) foram coletadas entre os meses de janeiro a março, época com a incidência de temperaturas mais elevadas quando comparadas a outros meses do ano. Este fato pode ter diminuído a atividade diastásica nessas amostras. As demais amostras analisadas atendem aos padrões definidos pelos órgãos reguladores (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; EUROPEANCOMMISSION, 2002).

3.5 Capacidade redutora de ferro (FRAP), Folin-Ciocalteu e desativação do radical DPPH

Os resultados obtidos para avaliação da capacidade redutora de ferro (FRAP) Folin-Ciocalteu e desativação do radical DPPH estão expressos na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 – Capacidade redutora de ferro (FRAP), Folin-Ciocalteu e desativação do radical DPPH das amostras de mel de melato de bracatinga e florais coletadas no planalto serrano catarinense.

Amostra	FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{+2}$ 100 g^{-1})	FC (mg AGE 100 g^{-1})	DPPH (mg AAE 100 g^{-1})
M1	892,54±39,73	100,46±2,15	54,08±0,78
M2	961,36±47,32	97,42±5,43	48,13±1,90
M3	921,38±14,31	112,11±5,22	43,67±1,74
M4	923,50±8,45	100,18±4,62	41,42±0,11
M5	850,93±25,43	99,54±2,24	40,04±0,29
M6	788,75±35,05	116,71±5,64	34,63±0,12
M7	733,56±26,71	99,33±2,02	36,21±0,49
M8	785,65±27,50	101,59±4,83	35,92±1,48
M9	942,89±20,45	112,89±3,44	43,47±0,77
M10	739,99±4,46	103,92±4,69	40,19±0,68
M11	730,96±4,30	99,11±1,01	34,87±0,19
M12	1085,83±7,24	130,77±2,42	47,70±0,71
M13	805,35±21,57	76,76±1,20	42,71±2,01
M14	859,00±14,00	114,79±4,75	40,13±0,51
M15	897,09±24,55	113,86±4,45	41,91±1,79
M16	858,14±34,10	107,22±4,41	39,54±1,28
F1	275,76±10,31	56,15±1,22	13,47±0,58
F2	299,10±3,15	76,16±3,28	14,27±0,22
F3	423,43±24,88	70,91±3,63	20,03±0,67
F4	222,26±11,29	40,78±2,33	8,12±0,16
F5	333,63±6,59	31,55±1,60	20,27±0,39
F6	272,40±13,03	31,70±1,73	4,83±0,12
F7	521,95±0,01	87,23±0,50	59,33±1,04
F8	283,75±11,85	53,72±0,51	28,64±0,32
F9	333,62±13,16	61,98±0,74	17,79±0,03
F10	241,24±11,86	58,62±4,14	9,78±0,16
F11	651,59±21,45	85,82±5,89	22,60±0,71
F12	490,05±11,69	75,82±3,41	17,32±0,42

Continuação

Amostra	FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$)	FC ($\text{mg AGE } 100 \text{ g}^{-1}$)	DPPH ($\text{mg AAE } 100 \text{ g}^{-1}$)
F13	255,42±11,97	43,00±1,25	7,00±0,07
F14	473,34±12,44	76,92±4,47	17,35±0,66
F15	324,63±6,59	28,82±1,21	9,66±0,19
F16	240,89±13,86	50,35±2,87	12,17±0,21
F17	232,03±2,39	47,98±1,95	9,12±0,14
F18	198,04±6,74	50,22±3,45	32,20±0,79
F19	602,50±3,86	81,22±2,89	21,80±0,61
F20	390,57±14,29	75,70±1,60	17,20±0,77
F21	441,71±3,76	90,45±4,34	19,25±0,24
F22	275,00±3,19	53,89±2,28	13,68±0,21
F23	334,82±2,17	74,00±2,15	42,04±1,07
F24	477,94±4,22	74,63±2,77	21,49±0,24
F25	253,60±8,38	34,99±2,05	6,29±0,21

Conclusão

Legenda: M – mel de melato de bracinga. F – mel floral. FRAP – Capacidade de redução do ferro. FC – Capacidade redutora de Folin-Ciocalteu. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) capacidade de desativação do radical DPPH. AAE – Ácido ascórbico equivalente. AGE – Ácido gálico equivalente.

Fonte: Adaptado de Bergamo *et al* (2018b).

O teste de FRAP é frequentemente utilizado para demonstrar o poder redutor de uma amostra avaliada a partir da redução de íons férricos para íons ferrosos. Nesse sentido, as amostras de mel de melato de bracinga demonstraram um poder de redução que variou de 649,08 $\mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$ a 1085,83 $\mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$, resultado superior aos encontrados em méis florais, em que o poder redutor variou de 222,26 $\mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$ a 602,50 $\mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$ (BERGAMO *et al.*, 2018b). Em geral, méis de melato tem uma tendência a apresentar um maior poder de redução férrica quando comparados a maioria dos méis florais, tendência já relata por Can *et al.* (2015) que avaliou méis da Turquia e relatou um poder redutor de 61,42 a 120,04 $\mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$ e 16,02 a 105,46 $\mu\text{mol Fe}^{+2} 100 \text{ g}^{-1}$; respectivamente.

Assim como o teste de FRAP, a avaliação da capacidade de redução de Folin-Ciocalteu também é um ensaio baseado

na transferência de elétrons, fornecendo como resultado a capacidade de redução da amostra, que é expressa como teor de fenólico (NOREEN *et al.*, 2017). As amostras de mel de melato de bracinga novamente demonstraram um poder redutor maior, 45,93 mg AGE 100 g⁻¹ a 130,77 mg AGE 100 g⁻¹ quando comparadas aos méis de origem floral 28,82 mg AGE 100 g⁻¹ a 90,45 mg AGE 100 g⁻¹ (BERGAMO *et al.*, 2018b). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Jaafar *et al.* (2017) em que a média da capacidade de redução de Folin-Ciocalteu foi de 100,11 mg AGE 100 g⁻¹ e 57,33 mg AGE 100 g⁻¹ para méis de melato e méis florais; respectivamente, coletados na região do Líbano.

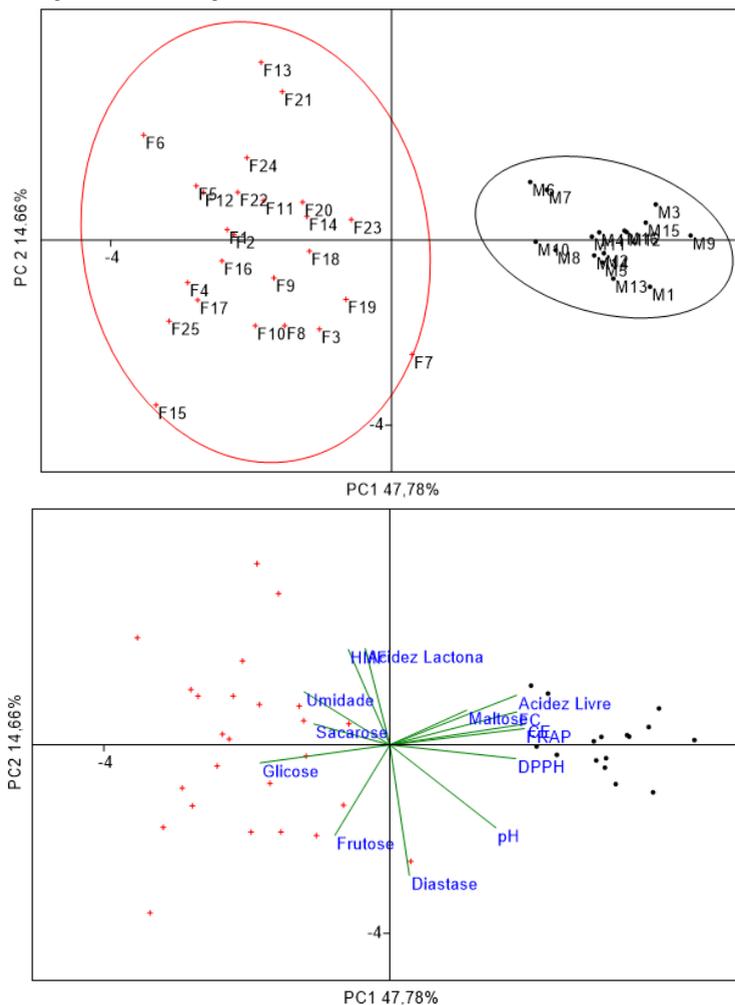
A capacidade de desativação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), avaliada pelo teste DPPH, determina a atividade de eliminação de radicais livres por meio da doação de um elétron. Assim, as amostras de mel de melato de bracinga demonstraram uma capacidade de desativação do radical que variou de 29,00 mg AAE 100 g⁻¹ a 54,08 mg AAE 100 g⁻¹, resultado superior aos encontrados em méis florais, em que os valores correspondentes variaram de 8,12 mg AAE 100 g⁻¹ a 42,04 mg AAE 100 g⁻¹ (BERGAMO *et al.*, 2018b). A capacidade de desativação do radical DPPH já foi reportada por Seraglio *et al.* (2017) em méis de melato de bracinga de uma safra anterior (2014) a utilizada nesse estudo, demonstrando assim que esse comportamento parece ser característico desse mel.

A capacidade redutora de ferro, Folin-Ciocalteu e de desativação do radical DPPH, podem indicar uma possível atividade antioxidante. Dessa forma, pode-se supor que os méis de melato de bracinga têm uma tendência a demonstrar uma atividade antioxidante superior quando comparado a méis florais (BERGAMO *et al.*, 2018b).

3.4 Análise multivariada

A partir dos dados obtidos, todos os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) com o objetivo de determinar quais seriam os parâmetros mais indicados para serem utilizados na diferenciação e autenticação botânica dos méis avaliados (Figura 2.1).

Figura 2.1 – Análise de componentes principais para amostras de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benthana) e méis florais utilizando como variáveis as características físico-químicas e capacidade de redução e desativação das amostras.



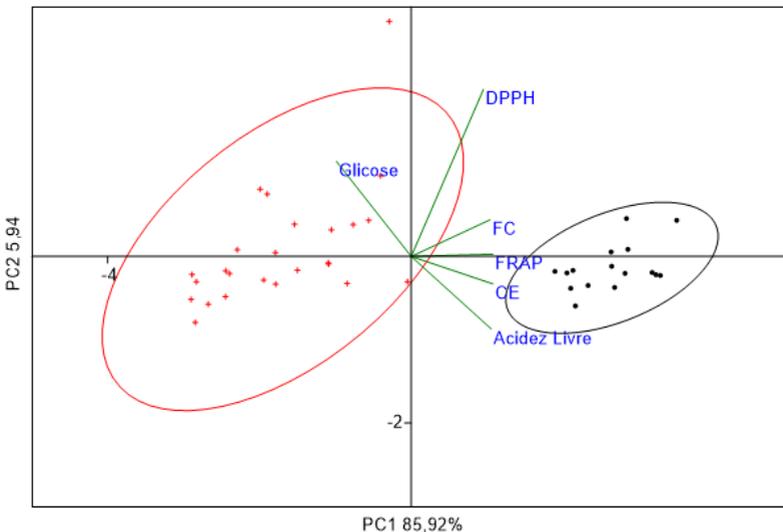
Legenda: ● Mel de melato de bracatinga. + Mel floral. CE – Condutividade elétrica. FRAP – Capacidade de redução do ferro. FC – Capacidade redutora de Folin-Ciocalteu. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) capacidade de desativação do radical DPPH.

Fonte: Adaptado de Bergamo *et al.* (2018b).

Observando a Figura 2.1, é possível verificar que os parâmetros que mais influenciam na diferenciação botânica são a condutividade elétrica, capacidade redutora de ferro e de Folin-Ciocalteu, capacidade de desativação do radical DPPH acidez livre, glicose, ambos com coeficiente de correlação acima de 0,83 com a PC1 (BERGAMO *et al.*, 2018b).

Embora todas as amostras pudessem ser bem discriminadas utilizando todas as variáveis avaliadas, uma nova PCA foi gerada apenas com as variáveis que apresentaram boa correlação com a PC1, objetivando assim uma melhor porcentagem de explicação dos dados, além de um menor número de variáveis para alcançar o resultado desejado (Figura 2.2) (BERGAMO *et al.*, 2018b).

Figura 2.2 – Análise de componentes principais para amostras de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) e méis florais utilizando como variáveis os resultados obtidos para condutividade elétrica, acidez livre, glicose, capacidade redutora de ferro (FRAP) e de Folin-Ciocalteu e de desativação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).



Legenda: ● Mel de melato de bracatinga. + Mel floral. CE – Condutividade elétrica. FRAP – Capacidade de redução do ferro. FC – Capacidade redutora de Folin-Ciocalteu. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) - Capacidade de desativação do radical DPPH.

Fonte: Adaptado de BERGAMO *et al.* (2018b).

Nessa nova análise de componentes principais, todas as amostras de mel de melato de bracatiga foram diferenciadas dos méis florais e ainda, apenas a PC1 explicou 85,92 % da variância total dos dados. Ainda, todas as variáveis avaliadas apresentaram um coeficiente de correlação com a PC1 acima de 0,85. Assim, foi possível verificar que apenas as variáveis condutividade elétrica, capacidade redutora de ferro e de Folin-Ciocalteu e de desativação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, glicose e acidez livre são suficientes para diferenciar méis de melato de bracatinga e florais produzidos na região serrana do planalto catarinense (BERGAMO, *et al.* 2018b).

4 CONCLUSÃO

Pela primeira vez a composição físico-química de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) foi descrita na literatura. A partir da avaliação dos dados foi possível verificar que esse produto apresenta uma acidez naturalmente elevada e em geral adequa-se aos padrões de qualidade preconizados pelo *Codex Alimentarius*. Ainda, méis florais produzidos na região serrana do estado de Santa Catarina também atendem às normativas estabelecidas.

A análise de componentes principais demonstrou que as análises físico-químicas, especialmente os parâmetros de condutividade elétrica, capacidade redutora de ferro e de Folin-Ciocalteu e de desativação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, acidez livre e glicose podem ser utilizadas como uma forma de diferenciação e autenticidade dos méis de melato de bracatinga. Dessa forma, salienta-se que os méis de melato de bracatinga podem ser diferenciados de méis florais a partir de análises físico-químicas comumente empregadas no processo de identificação do padrão de identidade e qualidade do mel.

REFERÊNCIAS

- AHMED, M.; DJEBLI, N.; AISSAT, S.; BACHA, S.; MESLEM, A.; KHIATI, B. Synergistic inhibition of natural honey and potato starch and their correlation with diastase number and sugar content against *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 1, n. 1, 2012.
- AMIRY, S.; ESMAILI, M.; ALIZADEH, M. Classification of adulterated honeys by multivariate analysis. **Food Chemistry**, v. 224, p. 390–397, 2017.
- AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. **Association of Official Analytical Chemists International**, 2005.
- AZEVEDO, M. S.; VALENTIM-NETO, P. A.; SERAGLIO, S. K. T.; LUZ, C. F. P. da; ARISI, A. C. M.; COSTA, A. C. O. Proteome comparison for discrimination between honeydew and floral honeys from botanical specie *Mimosa scabrella* Benthham by principal componet analysis. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 13, p. 4515–4519, 2017.
- BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power"; the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–6, 15 jul. 1996.
- BERGAMO, G.; SERAGLIO, S. K. T.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Mineral profile as a potential parameter for verifying the authenticity of bracinga honeydew honeys. **LWT**, v. 97, p. 390–395, 17 jul. 2018a.
- BERGAMO, G.; SERAGLIO, S. K. T.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Physicochemical characteristics of bracinga honeydew honey and blossom honey produced in the state of Santa Catarina: An approach to honey differentiation. **Food Research International**, v. 116, p. 745–754, 8 set. 2018b.
- BERTONCELJ, J.; DOBERSEK, U.; JAMNIK, M.; GOLOB, T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 822–828, 2007.
- BOGDANOV, S.; LULLMANN, C.; MOSSEL, B. L.; D'ARCY, B. R.; RUSSMANN, H.; VORWOHL, G.; ODDO, L.; SABATINI, A. G.; MARCAZZAN, G. L.; PIRO, R.; FLAMINI, C.; MORLOT, M.; LHERETIER, J.; BORNECK, R.; MARIOLEAS, P.; TSIGOURI, A.; KERKVLIT, J.; ORTIZ, A.; IVANOV, T.; VIT, P.; MARTIN, P.; OHE, W. Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: Review of the work of the International Honey Commission. **Bee World**, v. 80, n. 2, p. 61–69, 1999.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free

radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, jan. 1995.

BRASIL. Instrução normativa n.11. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA**, 2000b.

BUENO-COSTA, F. M.; ZAMBIAZI, R. C.; BOHMER, B. W.; CHAVES, F. C.; SILVA, W. P. da; ZANUSSO, J. T.; DUTRA, I. Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 333–340, 2016.

CAN, Z.; YILDIZ, O.; SAHIN, H.; AKYUZ TURUMTAY, E.; SILICI, S.; KOLAYLI, S. An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. **Food Chemistry**, v. 180, p. 133–41, 1 ago. 2015.

CAVIA, M. M.; FERNÁNDEZ-MUIÑO, M. A.; ALONSO-TORRE, S. R.; HUIDOBRO, J. F.; SANCHO, M. T. Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1728–1733, jan. 2007.

CHAKIR, A.; ROMANE, A.; MARCAZZAN, G. L.; FERRAZZI, P. Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p. S946–S954, 1 nov. 2016.

CHIRIFE, J.; ZAMORA, M. C.; MOTTO, A. The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 3, p. 287–292, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Alimentarius Commission Standards. **Codex Stan 12-1981**, p. 1–8, 2001.

CONTI, M. E. Lazio region (central Italy) honeys: a survey of mineral content and typical quality parameters. **Food Control**, v. 11, n. 6, p. 459–463, 1 dez. 2000.

DAE-OK KIM; KI WON LEE; HYONG JOO LEE; CHANG YONG LEE. Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3713–3717, 2002.

DOBRE, I.; GEORGESCU, L. A.; ALEXE, P.; ESCUREDO, O.; SEIJO, M. C. Rheological behavior of different honey types from Romania. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 126–132, nov. 2012.

DOMINGUEZ, M. A.; JACKSEN, J.; EMMER, Å.; CENTURIÓN, M. E. Capillary electrophoresis method for the simultaneous determination of carbohydrates and proline in honey samples. **Microchemical Journal**, v. 129, p. 1–4, 2016.

ESCRICHE, I.; TANLEQUE-ALBERTO, F.; VISQUERT, M.; OROIAN, M. Physicochemical and rheological characterization of honey from

- Mozambique. **LWT**, v. 86, p. 108–115, 1 dez. 2017.
- ESCUREDO, O.; DOBRE, I.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; SEIJO, M. C. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. **Food Chemistry**, v. 149, p. 84–90, abr. 2014.
- EUROPEAN COMMISSION. European Commission Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. **Official Journal of European Communities**, p. 10–47, 2002.
- EUROPEANCOMMISSION. European Commission. Council Directive 2001/110/EC. Relating to honey. Journal of European Communities, 47–52. **Official Journal of European Communities**, 2002.
- FECHNER, D. C.; MORESI, A. L.; RUIZ DÍAZ, J. D.; PELLERANO, R. G.; VAZQUEZ, F. A. Multivariate classification of honeys from Corrientes (Argentina) according to geographical origin based on physicochemical properties. **Food Bioscience**, v. 15, p. 49–54, 2016.
- FRÖSCHLE, M.; HORN, H.; SPRING, O. Characterization of *Jatropha curcas* honeys originating from the southern highlands of Madagascar. **LWT**, v. 93, p. 525–533, 1 jul. 2018.
- GOIS, G. C.; RODRIGUES, A. E.; LIMA, C. A. B. de; SILVA, L. T. Composição do mel de Apis mellifera: Requisitos de qualidade. **Acta Veterinaria Brasileira**, v. 7, n. 2, p. 137–147, 2013.
- JAAFAR, K.; HAIDAR, J.; KURAYDIYYAH, S.; GHADDAR, T.; KNIO, K.; ISMAIL, B.; TOUFEILL, I. Physicochemical, melissopalynological and antioxidant properties of artisanal honeys from Lebanon. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 8, p. 2296–2305, 23 jul. 2017.
- JUAN-BORRÁS, M.; SOTO, J.; GIL-SÁNCHEZ, L.; PASCUAL-MATÉ, A.; ESCRICHE, I. Antioxidant activity and physico-chemical parameters for the differentiation of honey using a potentiometric electronic tongue. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 7, p. 2215–2222, maio 2017.
- KATEEL, R.; BHAT, G.; BALIGA, S.; AUGUSTINE, A. J.; ULLAL, S.; ADHIKARI, P. Antibacterial action of Tropical honey on various bacteria obtained from diabetic foot ulcer. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 30, p. 29–32, 1 fev. 2018.
- KHALIL, M. I.; TANVIR, E. M.; AFROZ, R.; SULAIMAN, S. A.; GAN, S. H. Cardioprotective effects of Tualang Honey: amelioration of cholesterol and cardiac enzymes levels. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 286051, 3 maio 2015.
- MANIKIS, I.; THRASIVOULOU, A. The relation of physicochemical characteristics of honey and the crystallization sensitive parameters. **Apiacta**, v. 3, p. 01–05, 2001.
- MANZANARES, A. B.; GARCÍA, Z. H.; GALDÓN, B. R.; RODRÍGUEZ, E. R.; ROMERO, C. D. Differentiation of blossom and honeydew honeys

using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 664–672, maio 2011.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. **Bracatinga, mimosa scabrella bentham: cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis: Epagri, 2014.

MELO, Z. F. N.; DUARTE, M. E. M.; MATA, M. E. M. R. C. Estudo das alterações do hidroximetilfurfural e da atividade diastásica em méis de abelha em diferentes condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 5, n. 1, p. 89–99, 2003.

MENDES, C. de G.; SILVA, J. B. A. da; MESQUITA, L. X. de; MARACAJA, P. B. As análises de mel: Revisão. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 2, 2009.

NANDA, V.; SARKAR, B. C.; SHARMA, H. K.; BAWA, A. S. Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, n. 5, p. 613–619, 2003.

NASCIMENTO, K. S. do; SATTLER, J. A. G.; MACEDO, L. F. L.; GONZÁLEZ, C. V. S.; MELO, I. L. P.; ARAÚJO, E. S.; GRANATO, D.; SATTLER, A.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **LWT**, v. 91, p. 85–94, 1 maio 2018.

NAYIK, G. A.; NANDA, V. Physico-Chemical, enzymatic, mineral and colour characterization of three different varieties of honeys from Kashmir Valley of India with a multivariate approach. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 65, n. 2, p. 101–108, 2015. D

NIKOLOVA, K.; PANCHEV, I.; SAINOV, S.; GENTSCHEVA, G.; IVANOVA, E. Selected physical properties of lime bee honey in order to discriminate between pure honey and honey adulterated with glucose. **International Journal of Food Properties**, v. 15, n. 6, p. 1358–1368, nov. 2012.

NOREEN, H.; SEMMAR, N.; FARMAN, M.; MCCULLAGH, J. S. O. Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 10, n. 8, p. 792–801, 1 ago. 2017.

OROIAN, M. Physicochemical and rheological properties of Romanian honeys. **Food Biophysics**, v. 7, n. 4, p. 296–307, 5 dez. 2012.

OROIAN, M.; ROPCIUC, S.; PADURET, S.; SANDULEAC, E. T. Authentication of Romanian honeys based on physicochemical properties, texture and chemometric. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 13, p. 4240–4250, 9 dez. 2017.

PITA-CALVO, C.; VÁZQUEZ, M. Differences between honeydew and blossom honeys: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59,

p. 79–87, jan. 2017.

POPEK, S.; HALAGARDA, M.; KURSA, K. A new model to identify botanical origin of Polish honeys based on the physicochemical parameters and chemometric analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 482–487, 2017.

RIZELIO, V. M.; GONZAGA, L. V.; DA SILVA CAMPELO BORGES, G.; MICKE, G. A.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Development of a fast MECK method for determination of 5-HMF in honey samples. **Food Chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1640–1645, 2012a.

RIZELIO, V. M.; TENFEN, L.; DA SILVEIRA, R.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Development of a fast capillary electrophoresis method for determination of carbohydrates in honey samples. **Talanta**, v. 93, p. 62–66, maio 2012b.

RODRÍGUEZ, G. O.; FERRER, B. S.; FERRER, A.; RODRÍGUEZ, B. Characterization of honey produced in Venezuela. **Food Chemistry**, v. 84, n. 4, p. 499–502, 1 mar. 2004.

SAK-BOSNAR, M.; SAKAČ, N. A rapid method for the determination of honey diastase activity. **Talanta**, v. 93, p. 135–138, 2012.

SALONEN, A.; VIRJAMO, V.; TAMMELA, P.; FAUCH, L.; JULKUNEN-TIITTO, R. Screening bioactivity and bioactive constituents of Nordic unifloral honeys. **Food Chemistry**, v. 237, p. 214–224, 2017.

SERAGLIO, S. K. T.; VALESE, A. C.; DAGUER, H.; BERGAMO, G.; AZEVEDO, M. S.; NEHRING, P.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds, minerals, and antioxidant capacity of *Mimosa scabrella* Bentham honeydew honeys. **Food Research International**, v. 99, p. 670–678, 2017.

SILVA, P. M.; GAUCHE, C.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309–323, 2016.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Methods in Enzymology. v. 299, p. 152–178, 1999.

SMANALIEVA, J.; SENGE, B. Analytical and rheological investigations into selected unifloral German honey. **European Food Research and Technology**, v. 229, n. 1, p. 107–113, 29 maio 2009.

TERRAB, A.; ESCUDERO, M. L.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J. Colour characteristics of honeys as influenced by pollen grain content: a multivariate study. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 4, p. 380–386, mar. 2004.

TERRAB, A.; GONZÁLEZ, A. G.; DÍEZ, M. J.; HEREDIA, F. J. Mineral

content and electrical conductivity of the honeys produced in Northwest Morocco and their contribution to the characterisation of unifloral honeys.

Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 83, n. 7, p. 637–643, 15 maio 2003a.

TERRAB, A.; GONZÁLEZ, A. G.; DÍEZ, M. J.; HEREDIA, F. J. Characterisation of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis.

European Food Research and Technology, v. 218, n. 1, p. 88–95, 1 dez. 2003b.

WOLFF, V. R. dos S.; WITTER, S.; LISBOA, B. B. Reporte de *Stigmacoccus paranaensis* Foldi (Hemiptera, Stigmacoccidae), insecto escama asociado con la producción de miel de mielato en Rio Grande do Sul, Brasil. **Insecta Mundi**, n. 434, p. 1–7, 2015.

YÜCEL, Y.; SULTANOĞLU, P. Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics.

Food Bioscience, v. 1, p. 16–25, 1 mar. 2013.

**CAPÍTULO 3 – PERFIL DE MINERAIS MAJORITÁRIOS
COMO UM PARÂMETRO POTENCIAL PARA VERIFICAÇÃO
DE AUTENTICIDADE OU FRAUDE EM MÉIS DE MELATO DE
BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham)**

Esse capítulo foi baseado no artigo intitulado “*Mineral profile as a potential parameter for verifying the authenticity of bracatinga honeydew honeys*”, publicado na Revista LWT - *Food Science and Technology*. ISSN: 0023.6438. (doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.028)

CAPÍTULO 3 – PERFIL DE MINERAIS MAJORITÁRIOS COMO UM PARÂMETRO POTENCIAL PARA VERIFICAÇÃO DE AUTENTICIDADE OU FRAUDE EM MÉIS DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham)

RESUMO

A crescente demanda por méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), tanto pelos consumidores quando pela indústria, tem levantado preocupações sobre a autenticidade deste produto. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver um modelo de classificação (Árvore de Classificação e Regressão) para diferenciar méis de melato de bracatinga de méis florais e, méis de melato adulterados com méis florais (nas proporções de 5, 15 e 25% de mel de floral). Um total de 67 amostras de mel foram analisadas, sendo 13 amostras de mel de melato de bracatinga, 20 de méis florais, sete de mel de melato de bracatinga comerciais e 27 méis de melato de bracatinga adulterados com mel floral. O modelo de classificação desenvolvido estabeleceu parâmetros claros que caracterizaram cada classe de mel avaliada e, após sua aplicação todas as amostras de mel de melato e de méis florais foram corretamente classificadas. Apenas duas amostras de mel de melato adulteradas (na proporção de 95:5; melato:floral) foram classificadas erroneamente. Sendo assim, o modelo de classificação proposto apresenta perspectivas promissoras para sua aplicação, visando melhorar a verificação de autenticidade e a detecção de fraudes de méis de melato de bracatinga.

Palavras-chave: C&RT, árvore de classificação, potássio.

1 INTRODUÇÃO

A origem botânica e geográfica são importantes atributos para o mel uma vez que essas características geralmente estão relacionadas a propriedades sensoriais, físico-químicas ou bioativas específicas (ALDA-GARCILOPE *et al.*, 2012; KAYGUSUZ *et al.*, 2016). Essas particularidades favorecem e estimulam o consumo de determinados tipos de méis pois os consumidores geralmente procuram produtos com propriedades específicas. Assim, méis de origem botânica ou geográfica reconhecidas costumam ter um valor de mercado maior, comparados às que não possuem essas características bem estabelecidas (BERGAMO *et al.*, 2018).

Neste contexto, os méis de melato, obtidos das secreções de plantas vivas ou excreções produzidas por insetos que se alimentam da seiva de plantas (CODEX ALIMENTARIUS, 2001), estão sendo cada vez mais consumidos e valorizados devido às suas propriedades nutricionais e medicinais potencialmente maiores quando comparados aos méis florais (BERGAMO *et al.*, 2018). Reconhecidamente, méis de melato geralmente apresentam maior teor de minerais (PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008; KAYGUSUZ *et al.*, 2016), maior potencial antioxidante (LACHMAN *et al.*, 2007; SERAGLIO *et al.*, 2017) e maior atividade antimicrobiana (MAJTAN *et al.*, 2011).

A bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) é uma árvore nativa do Brasil, muito utilizada na indústria madeireira e também como um importante recurso melífero para a produção de mel (BARTH, 2004; PRIMIERI *et al.*, 2016). Suas flores florescem na estação da primavera, período em que os apicultores mantêm as colmeias para produção de mel floral. A cada dois anos (coincidentalmente, em anos pares), geralmente no primeiro semestre, os insetos dos gêneros *Tachardiella* sp. e *Stigmacoccus* sp. se reproduzem no caule da planta, se alimentam da seiva e liberam uma excreção sacarínica (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015). Como as fontes de néctar são escassas e raras nessa época do ano, as abelhas utilizam essa substância para produzir mel, dando origem ao mel de melato de bracatinga (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014). Este é, portanto, um tipo muito particular e exótico de mel e, embora ainda não seja cientificamente bem explorado, já é reconhecido pela bioacessibilidade de alguns de seus compostos (SERAGLIO *et al.*, 2017). Amplamente aceito e altamente valorizado, principalmente em países europeus, recentemente recebeu o prêmio de melhor mel de

melato do mundo no 45º congresso apícola internacional APIMONDIA, realizado em Istambul, Turquia (International Apicultural Congress, 2017).

As características únicas do mel de melato de bracatinga associados à elevada demanda pelo produto, destacam a importância de se verificar a autenticidade deste mel. Uma prática fraudulenta que pode ser realizada é a adição de méis florais com baixo valor comercial aos méis de melato, visando aumentar o rendimento (BERGAMO *et al.*, 2018). Embora o conteúdo de minerais tenha sido pouco utilizado para distinguir méis de melato e méis florais, este parâmetro já foi muito utilizado para diferenciar a origem botânica de méis florais, uma vez que o mesmo representa um reflexo dos elementos que compõem o néctar, grãos de pólen, solo e plantas próximas à região da colmeia (CAVIA *et al.*, 2007; MADEJCZYK; BARALKIEWICZ, 2008; ALDA-GARCILOPE *et al.*, 2012; KAYGUSUZ *et al.*, 2016). Além disso, o teor de minerais, bem como sua associação a outros parâmetros físico-químicos tem sido utilizado com sucesso para distinguir a origem geográfica dos méis de origem floral (GONZÁLEZ-PARAMÁS *et al.*, 2000; RIZELIO *et al.*, 2012). No entanto, o conteúdo mineral não tem sido explorado com o objetivo de detectar fraudes, principalmente aquelas associadas à mistura de diferentes tipos de méis.

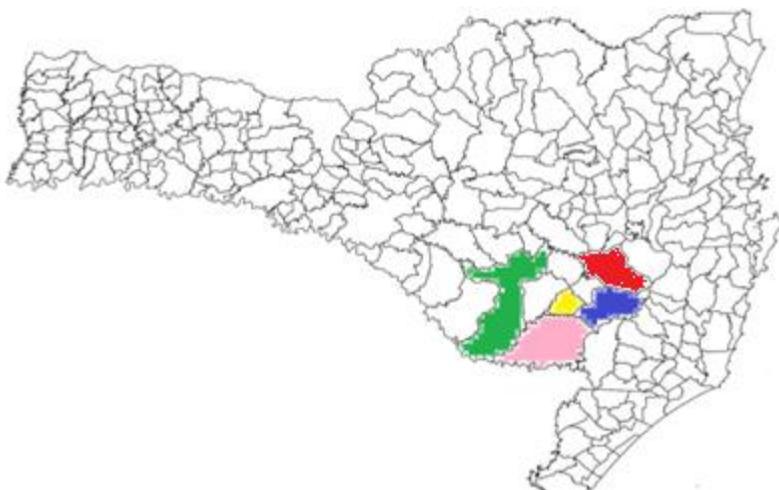
Neste contexto, o objetivo deste capítulo foi detectar possíveis casos de fraude e verificar a autenticidade de méis de melato de bracatinga a partir do desenvolvimento de um modelo de classificação baseado na quantificação de cinco minerais, potássio, sódio, cálcio, magnésio e manganês.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras

As amostras de mel foram coletadas diretamente com apicultores profissionais durante o ano de 2016 (janeiro a novembro) em municípios do estado de Santa Catarina, Brasil (Figura 3.1) (Tabela 3.1). A identificação dos méis de melato de bracatinga e dos méis florais foi baseada nas declarações dos apicultores. As amostras comerciais de mel de melato de bracatinga foram coletadas em suas embalagens comerciais dos pontos de venda das mesmas cidades onde as amostras puras foram coletadas.

Figura 3.1 – Mapa de Santa Catarina: cidades onde as amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) e méis florais foram coletadas.



Legenda: ■ (Vermelho) – Bom Retiro. ■ (Verde) – Lages. ■ (Rosa) – São Joaquim. ■ (Amarelo) – Urupema. ■ (Azul) – Urubici.

Fonte: A Autora.

Tabela 3.1 – Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) (puro e comercial) e mel floral.

Amostra	Cidade	Tipo	Origem botânica
M1, M2	Bom Retiro	Mel de melato	Bracatinga (<i>M. scabrella</i> Bentham)
M3, M4	Lages		
M5, M6	São Joaquim		
M7, M8, M9, M10	Urubici		
M11, M12, M13	Urupema		
F1, F2, F3	Bom Retiro	Mel floral	Multifloral
F4	Bom Retiro		<i>Sida</i> sp.
F5	Lages		<i>Bracatinga</i> sp.
F6, F7, F8	Lages		Multifloral
F9, F12, F13	São Joaquim		Multifloral
F10	São Joaquim		<i>Myrcia multiflora</i>
F11	São Joaquim		<i>Malus domestica</i>
F14, F15, F16, F17	Urubici		Multifloral
F18, F20	Urupema		<i>Clethra scabra</i> Pers.
F19	Urupema		<i>Sida</i> sp.
C1, C2	Bom Retiro	Mel de melato	Bracatinga (<i>M. scabrella</i> Bentham)
C3	Lages		
C4	São Joaquim		
C5, C6, C7	Urubici		

Legenda: M – Mel de melato de bracatinga (Amostra pura). F – Mel floral. C – Mel de melato de bracatinga comercial.

Fonte: Adaptado de Bergamo *et al.*, (2018).

Para simular as amostras adulteradas, três amostras de mel de melato de bracatinga puro foram misturadas com três amostras de mel floral em diferentes proporções: 95:5, 85:15 e 75:25 (m:m) (melato:floral), resultando em 27 amostras adulteradas (Tabela 3.2). Essas misturas foram homogeneizadas manualmente.

Tabela 3.2 - Mel de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham) adulterado com mel floral.

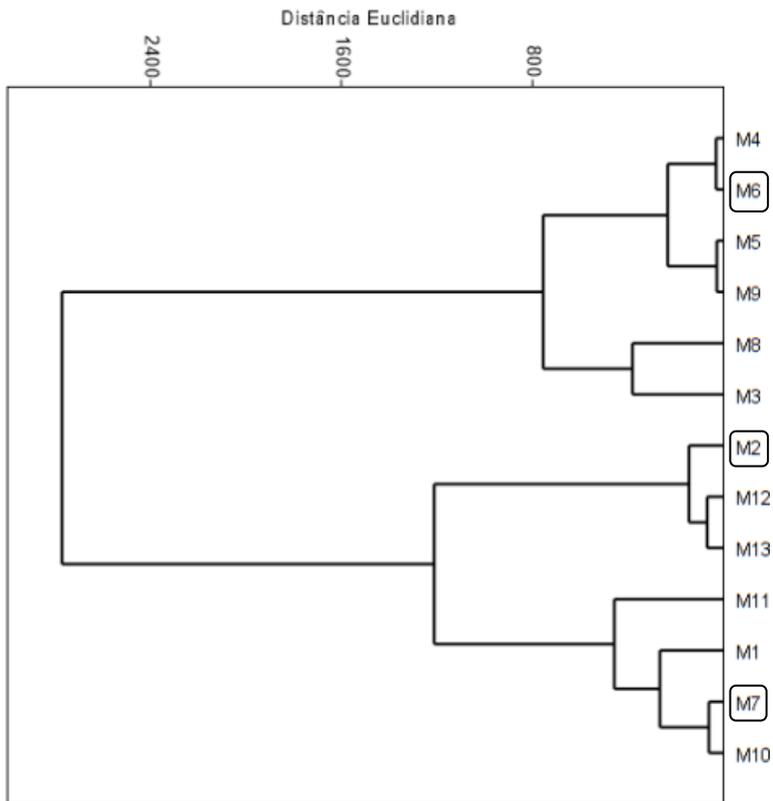
Amostra	Mistura (m:m)	Amostra	Mistura (m:m)	Amostra	Mistura (m:m)
A1	M2 + F1 (95:5)	A10	M6 + F1 (95:5)	A19	M7 + F1 (95:5)
A2	M2 + F1 (85:15)	A11	M6 + F1 (85:15)	A20	M7 + F1 (85:15)
A3	M2 + F1 (75:25)	A12	M6 + F1 (75:25)	A21	M7 + F1 (75:25)
A4	M2 + F12 (95:5)	A13	M6 + F12 (95:5)	A22	M7 + F12 (95:5)
A5	M2 + F12 (85:15)	A14	M6 + F12 (85:15)	A23	M7 + F12 (85:15)
A6	M2 + F12 (75:25)	A15	M6 + F12 (75:25)	A24	M7 + F12 (75:25)
A7	M2 + F14 (95:5)	A16	M6 + F14 (95:5)	A25	M7 + F14 (95:5)
A8	M2 + F14 (85:15)	A17	M6 + F14 (85:15)	A26	M7 + F14 (85:15)
A9	M2 + F14 (75:25)	A18	M6 + F14 (75:25)	A27	M7 + F14 (75:25)

Legenda: A – Mel de melato de bracinga adulterado com mel floral. M – Mel de melato de bracinga. F – Mel floral.

Fonte: Adaptado de Bergamo *et al.*, (2018a).

Para a seleção das amostras que compuseram os ensaios de adulteração, uma análise de agrupamento foi realizado utilizando o método de separação de Ward e calculada considerando a distância euclidiana. A partir do dendograma obtido, uma amostra representativa de cada subgrupo formado foi escolhida, conforme demonstrado nas Figuras 3.2 e 3.3. Cabe ressaltar que, para a escolha da amostra representativa de cada subgrupo a origem geográfica das amostras foi levada em consideração, uma vez que essa variável pode interferir no conteúdo mineral do mel.

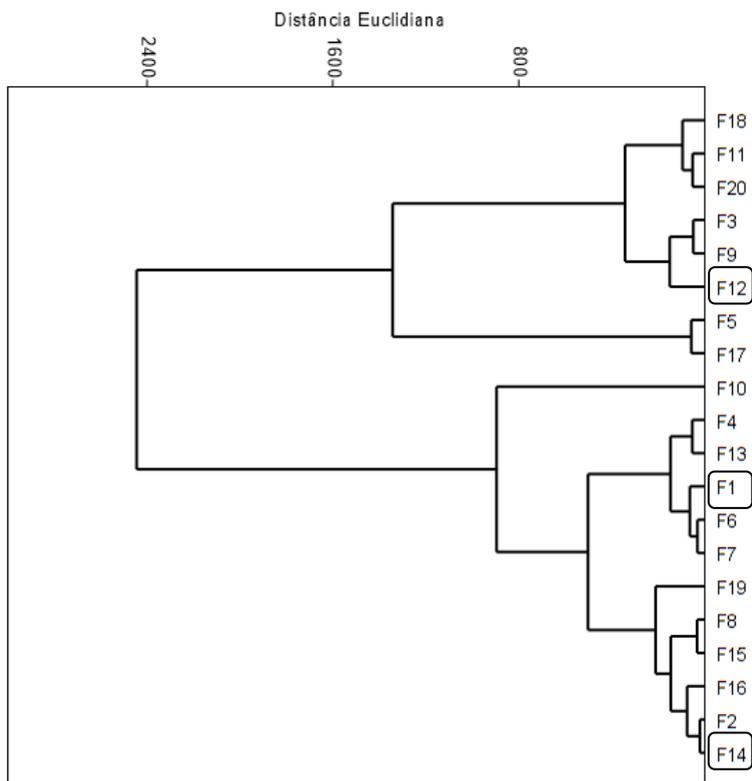
Figura 3.2 - Análise de agrupamento para méis de melato bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) utilizando o método de separação de Ward e calculada considerando a distância euclidiana.



Legenda: M – Mel de melato de bracatinga. As amostras grifadas com um retângulo foram selecionadas para o ensaio de adulteração artificial das amostras.

Fonte: A Autora.

Figura 3.3 - Análise de agrupamento para méis de origem floral utilizando o método de separação de Ward e calculada considerando a distância euclidiana.



Legenda: F – Mel floral. As amostras grifadas com um retângulo foram selecionadas para o ensaio de adulteração artificial das amostras.

Fonte: A Autora.

A preparação das amostras para determinação do teor de minerais consistiu em diluir o mel com água ultrapura (sistema Milli-Q Simplicity® UV da Millipore Corporation, Saverne, França) na proporção de 3:7 (m/m) mel:água. Quando necessário, outras diluições foram realizadas.

2.2 Teor de minerais

Todos os produtos químicos utilizados neste estudo apresentavam grau analítico, adquiridos da empresa Sigma-Aldrich, e água ultrapura foi empregada. A concentração dos elementos potássio, sódio, cálcio, magnésio e manganês foi determinada pelo método proposto por Rizelio *et al.* (2012), com algumas modificações (SERAGLIO *et al.*, 2017; BERGAMO *et al.*, 2018), empregando um sistema de eletroforese capilar (Agilent, modelo 7100, Alemanha) equipado com um detector de arranjo de diodos. O eletrólito de corrida (BGE, do inglês “background electrolyte”) foi composto por 30 mmol L⁻¹ de imidazol, 300 mmol L⁻¹ de ácido acético e 140 mmol L⁻¹ de ácido láctico, pH 3,0, injetados em um capilar de 48,5 cm de comprimento total (40,0 cm de comprimento efetivo × 75 µm D.I × 375 µm de diâmetro externo). A injeção foi realizada hidrodinamicamente, 50 mbar por 3 segundos, pela extremidade mais longa do capilar (entrada). A tensão de separação aplicada foi de 15 kV, com polaridade positiva para a injeção, e o detector foi ajustado para 215 nm com uma referência a 450 nm para inversão de pico (detecção indireta). A temperatura foi controlada a 20 °C e foi utilizado bário (Ba⁺) como padrão interno (amostra 9:1 : padrão interno 5 mmol L⁻¹). A curva de calibração foi construída com seis níveis de concentração igualmente espaçados variando de 3 a 15 mmol L⁻¹ para potássio, 0,05 a 0,75 mmol L⁻¹ para magnésio, 0,01 a 0,1 mmol L⁻¹ para manganês, 0,05 a 1,5 mmol L⁻¹ para cálcio e sódio.

2.3 Análise Quimiométrica

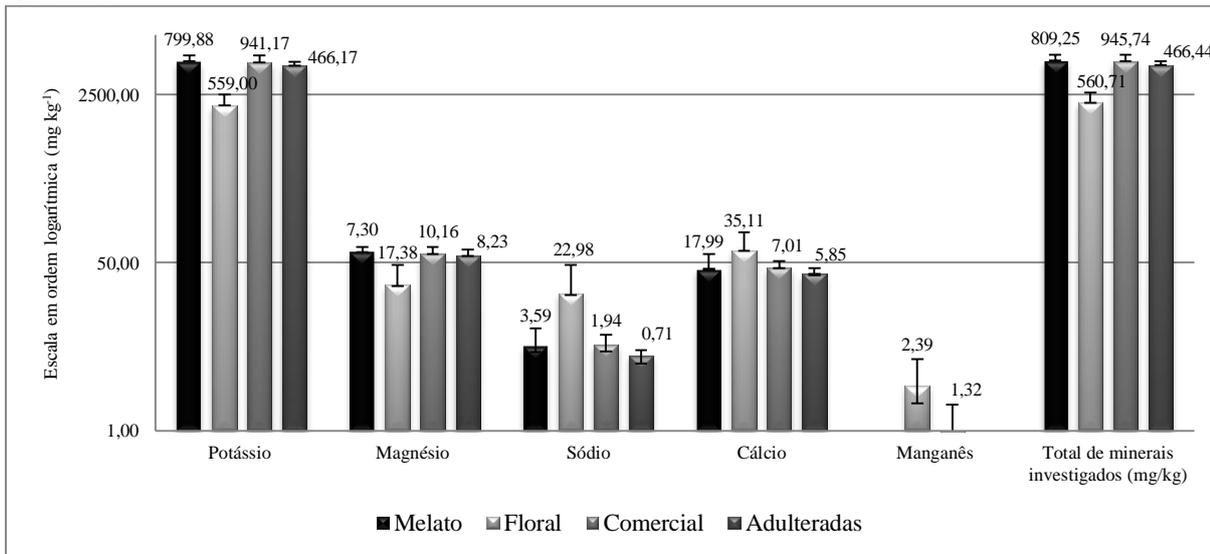
Um modelo para a classificação do tipo de mel (melato, floral e mistura) foi desenvolvido a partir do método de árvore de classificação e regressão de dados C&RT (do inglês “*Classification and Regression Trees*”). Nesse modelo, um conjunto de dados é dividido sucessivamente em subconjuntos cada vez mais homogêneos, até que algum critério específico seja satisfeito. Essas divisões são representadas por uma estrutura de árvore, onde cada nó corresponde a uma divisão em uma variável específica (BELL, 1996).

Os “*softwares*” Statistica® versão 10 e Paleontological Statistical (Past) versão 2.16 foram utilizados para realizar as análises estatísticas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os teores médios de cada mineral encontrado nas amostras dos méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) puros, comerciais e adulterados e nos méis florais são apresentados na Figura 3.4.

Figura 3.4 – Teores médios dos minerais investigados nas amostras de méis de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham) (puros, comerciais e adulterados) e florais, coletadas no estado de Santa Catarina.



Legenda: Barras indicam o desvio padrão das médias ($n=3$).

Fonte: A Autora.

O teor total dos minerais investigados variou de $4218,71 \pm 176,06 \text{ mg kg}^{-1}$ a $6764,46 \pm 74,70 \text{ mg kg}^{-1}$ para méis de melato de bracinga e, de $1047,08 \pm 30,92 \text{ mg kg}^{-1}$ a $3405,12 \pm 21,40 \text{ mg kg}^{-1}$ para os méis florais (BERGAMO *et al.*, 2018). Essa grande diferença nas concentrações encontradas nessas duas distintas classes de mel já foi relatada em outros estudos (CONTI *et al.*, 2007; PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008; VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011).

Para essas duas classes de mel, o potássio foi o principal mineral quantificado. Em alguns casos, a concentração foi até seis vezes superior em méis de melato quando comparado a méis florais. Esses resultados estão de acordo com aqueles encontrados por outros autores que avaliaram méis de melato de diferentes origens (CONTI *et al.*, 2007; PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008; MADEJCZYK; BARALKIEWICZ, 2008; VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011). Em relação aos méis de melato de bracinga comerciais, os resultados foram comparáveis aqueles observados para os méis melato de bracinga puros, com valores variando de $4037,12 \pm 45,47 \text{ mg kg}^{-1}$ a $6719,38 \pm 200,20 \text{ mg kg}^{-1}$ para o teor de potássio (BERGAMO *et al.*, 2018). Para os méis adulterados, os valores de potássio foram menores, variando de $3975,95 \pm 101,25 \text{ mg kg}^{-1}$ a $5678,26 \pm 22,67 \text{ mg kg}^{-1}$ (BERGAMO *et al.*, 2018). Esses resultados foram esperados, uma vez que o mel floral adicionado ao mel de melato continha menor teor desse mineral.

Além do potássio, os minerais magnésio, sódio e cálcio também estavam presentes nas duas classes de méis avaliados. Para os méis de melato, os valores variaram de $54,64 \pm 0,47 \text{ mg kg}^{-1}$ a $80,08 \pm 4,27 \text{ mg kg}^{-1}$, $1,70 \pm 0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ a $12,92 \pm 0,77 \text{ mg kg}^{-1}$ e $18,92 \pm 0,46 \text{ mg kg}^{-1}$ a $71,87 \pm 1,68 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, enquanto que para os méis florais os intervalos correspondentes foram de $12,50 \pm 0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ a $86,28 \pm 1,62 \text{ mg kg}^{-1}$, $3,57 \pm 0,22 \text{ mg kg}^{-1}$ a $77,17 \pm 3,27 \text{ mg kg}^{-1}$ e $16,79 \pm 0,26 \text{ mg kg}^{-1}$ a $168,94 \pm 4,02 \text{ mg kg}^{-1}$ (BERGAMO *et al.*, 2018). Esses analitos também foram os principais minerais encontrados nos méis de melato e em méis florais avaliados em outros estudos (CONTI *et al.*, 2007; PISANI; PROTANO; RICCOBONO, 2008; MADEJCZYK; BARALKIEWICZ, 2008). Ao se comparar os valores médios apresentados por esses méis para esses analitos, é possível observar maiores valores de magnésio e cálcio e menores valores de sódio para méis de melato de bracinga. Para as amostras comerciais, os valores foram geralmente semelhantes aos encontrados para as amostras de mel de melato de bracinga puro, com valores

variando de $46,32 \pm 0,87 \text{ mg kg}^{-1}$ a $77,28 \pm 3,05 \text{ mg kg}^{-1}$ para magnésio, $4,78 \pm 0,08 \text{ mg kg}^{-1}$ a $11,09 \pm 0,62 \text{ mg kg}^{-1}$ para sódio e $37,27 \pm 0,15 \text{ mg kg}^{-1}$ a $55,85 \pm 0,66 \text{ mg kg}^{-1}$ para cálcio (BERGAMO *et al.*, 2018). Os valores correspondentes para os méis de melato adulterados foram de $46,05 \pm 1,30 \text{ mg kg}^{-1}$ a $73,92 \pm 1,92 \text{ mg kg}^{-1}$; $4,64 \pm 0,30 \text{ mg kg}^{-1}$ a $7,44 \pm 0,73 \text{ mg kg}^{-1}$ e $27,97 \pm 1,69 \text{ mg kg}^{-1}$ a $53,06 \pm 1,64 \text{ mg kg}^{-1}$ (BERGAMO *et al.*, 2018).

O elemento manganês não foi detectado em nenhuma das amostras de mel de bracatinga puras ($< 0,27 \text{ mg L}^{-1}$). Este fato parece ser particular para esse grupo específico de mel, já que vários autores relataram quantidades detectáveis deste mineral em méis de outras origens botânicas e geográficas (CONTI *et al.*, 2007; KAYGUSUZ *et al.*, 2016). Para o mel de melato de bracatinga comercial, apenas uma amostra (A1) apresentou quantidade quantificável de manganês ($3,5 \text{ mg kg}^{-1}$) (BERGAMO *et al.*, 2018) demonstrando assim que possivelmente essa amostra em particular tenha uma percentagem de mel floral em sua composição, uma vez que o manganês esteve presente na maioria dos méis de flores avaliados.

A fim de identificar a possível adulteração do mel de melato de bracatinga por meio da adição de méis florais, construiu-se um modelo de classificação utilizando a Árvore de Classificação e Regressão C&RT. O objetivo foi permitir a classificação das amostras de mel em três grupos: mel de melato de bracatinga (puro e adulterado) e mel floral. Este modelo foi previamente utilizado com sucesso para a classificação de méis de flores de diferentes origens botânicas por Popek, Halagarda e Kursá (2017) utilizando como variáveis os resultados obtidos para 12 parâmetros físico-químicos. Para a construção desse modelo, apenas o uso dos cinco minerais investigados foi necessário para garantir um bom modelo de predição.

A Figura 3.5 apresenta o modelo de classificação desenvolvido, onde as amostras de mel foram classificadas em três grupos distintos: mel de melato de bracatinga puro, mel floral e mel de melato de bracatinga adulterado (contendo 5% ou mais de mel floral), de acordo com as condições pré-estabelecidas (todos os valores são dados em mg kg^{-1}):

a) Mel floral:

- Potássio menor ou igual a 3621,305.

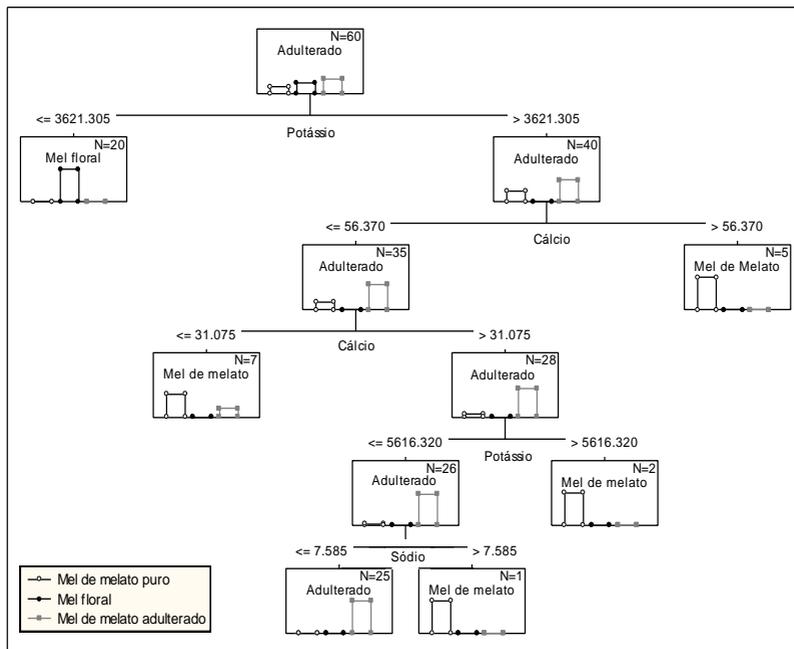
b) Mel de melato de bracatinga puro (respeitando essa ordem):

- Potássio maior que 3621,305 e cálcio maior que 56,370; ou
- Potássio maior que 3621,305, cálcio menor ou igual a 56,370 e cálcio menor ou igual a 31,075; ou
- Potássio maior que 3621,305, cálcio menor ou igual a 56,370, cálcio maior que 31,075 e potássio maior que 5616,320; ou
- Potássio maior que 3621,305, cálcio menor ou igual a 56,370, cálcio maior que 31,075, potássio menor ou igual a 5616,320 e sódio maior que 7,585.

c) Mel de melato de bracatinga adulterado com mel floral (respeitando essa ordem):

- Potássio maior que 3621,305, cálcio menor ou igual a 56,370, cálcio maior que 31,075, potássio menor ou igual a 5616,320 e sódio menor ou igual a 7,585.

Figura 3.5 - Modelo de Árvore de Classificação e Regressão de Dados C&RT utilizando o conteúdo mineral como variável (mg kg^{-1}) para diferenciação das amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) puro, mel floral e mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) adulterado com mel floral.



Legenda: N – número de amostras classificadas.

Fonte: Adaptado de (BERGAMO *et al.*, 2018).

Para avaliar a representação efetiva da estrutura do conjunto de dados obtida pelo modelo de classificação proposto, construiu-se uma matriz de classificação (Tabela 3.3). Pode-se observar que o modelo de classificação proposto foi capaz de classificar corretamente todas as amostras de mel de melato de bracatinga e de mel floral (100%) e 92,59% das amostras de mel de melato adulterado, indicando que o modelo é confiável e pode ser utilizado com sucesso na classificação de mel de melato de bracatinga e méis florais, bem como amostras de mel de melato de bracatinga contendo mel floral.

Tabela 3.3 – Matriz de classificação para o Modelo de Árvore de Classificação e Regressão de Dados C&RT proposto para a diferenciação de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), méis florais e méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) adulterado com méis de origem floral.

	Predito M	Predito F	Predito A
Observado M	13/13	0/0	0/0
Observado F	0/0	20/20	0/0
Observado A	2/0	0/0	25/27

Legenda: M – Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham). F – Mel floral. A – Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) adulterado com mel floral. Observado/Predito - número de observações no conjunto de dados / número previsto de observações.

Fonte: Adaptado de (BERGAMO *et al.*, 2018).

Ao utilizar o modelo para avaliar os méis de melato de bracatinga comerciais, verificou-se que apenas as amostras A2, A3 e A6 foram classificadas como puras. As outras quatro amostras foram classificadas como misturas (BERGAMO *et al.*, 2018). Estes resultados sugerem que estas amostras contêm provavelmente alguma quantidade de mel floral adicionado em sua composição.

É importante enfatizar que o método de classificação proposto pode ser usado para verificação de autenticidade e detecção de fraudes, que pode ser fácil e rapidamente alcançado através da investigação de apenas cinco minerais encontrados no mel.

4 CONCLUSÃO

A análise da composição mineral dos méis da região serrana do Estado de Santa Catarina revelou que os méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) possuem maiores teores de potássio, magnésio e cálcio e menores valores de sódio quando comparados aos méis florais. Além disso, foi verificado que os méis de melato de bracatinga considerados como puros não continham manganês em sua composição, o que possivelmente pode ser um parâmetro para identificar sua autenticidade.

O Método de Árvore de classificação e regressão de dados - C&RT proposto por esse estudo, associado à análise quantitativa de cinco minerais, permitiu a distinção entre mel de melato de bracatinga e mel floral além de identificar possíveis adulterações ocasionadas pela adição de méis florais aos méis de melato de bracatinga. A partir do modelo de classificação elaborado, ainda foi possível identificar que quatro amostras comerciais de mel de melato de bracatinga possivelmente continham teores superiores a 5% de mel floral em sua composição.

Dessa forma, o modelo desenvolvido pode fornecer uma maneira viável para verificar a autenticidade e fraude dos méis de melato de bracatinga, podendo ser utilizado como parte do processo inicial para a triagem de mel.

REFERÊNCIAS

- 45th Apimondia - International Apicultural Congress.** Disponível em: <http://www.apimondia2017.org>>. Acesso em: 16 out. 2017.
- ALDA-GARCILOPE, C.; GALLEGÓ-PICÓ, A.; BRAVO-YAGÜE, J. C.; GARCINUÑO-MARTÍNEZ, R. M.; FERNÁNDEZ-HERNANDO, P. Characterization of Spanish honeys with protected designation of origin “Miel de Granada” according to their mineral content. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1785–1788, dez. 2012.
- BARTH, O. M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 3, p. 342–350, jun. 2004.
- BELL, J. F. Application of classification trees to the habitat preference of upland birds. **Journal of Applied Statistics**, v. 23, n. 2–3, p. 349–360, 2 jun. 1996.
- BERGAMO, G.; SERAGLIO, S. K. T.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Mineral profile as a potential parameter for verifying the authenticity of bracatinga honeydew honeys. **LWT**, v. 97, p. 390–395, 17 jul. 2018.
- CAVIA, M. M.; FERNÁNDEZ-MUIÑO, M. A.; ALONSO-TORRE, S. R.; HUIDOBRO, J. F.; SANCHO, M. T. Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1728–1733, jan. 2007.
- CODEX ALIMENTARIUS. **Revised Codex Standard for Honey, Standards and Standard Methods**, 2001.
- CONTI, M. E.; STIPEIKIS, J.; CAMPANELLA, L.; CUCINA, D.; TUDINO, M. B. Characterization of Italian honeys (Marche Region) on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. **Chemistry Central Journal**, v. 1, n. 1, p. 14, 2007.
- GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M.; GÓMEZ-BÁREZ, J. A.; GARCIA-VILLANOVA, R. J.; RIVAS-PALÁ, T.; ALBAJAR, R. A.; SÁNCHEZ, J. S. Geographical discrimination of honeys by using mineral composition and common chemical quality parameters. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 1, p. 157–165, 1 jan. 2000.
- KAYGUSUZ, H.; TEZCAN, F.; BEDIA ERIM, F.; YILDIZ, O.; SAHIN, H.; CAN, Z.; KOLAYLI, S. Characterization of Anatolian honeys based on minerals, bioactive components and principal component analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 273–279, 2016.
- LACHMAN, J.; KOLIHOVÁ, D.; MIHOLOVÁ, D.; KOŠATA, J.; TITĚRA, D.; KULT, K. Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 973–979, jan. 2007.
- MADEJCZYK, M.; BARALKIEWICZ, D. Characterization of Polish rape

- and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. **Analytica chimica acta**, v. 617, n. 1–2, p. 11–7, 9 jun. 2008.
- MAJTAN, J.; MAJTANOVA, L.; BOHOVA, J.; MAJTAN, V. Honeydew honey as a potent antibacterial agent in eradication of multi-drug resistant *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cancer patients. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 4, p. 584–587, 1 abr. 2011.
- MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. **Bracatinga, mimosa scabrella bentham: cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis: Epagri, 2014.
- PISANI, A.; PROTANO, G.; RICCOBONO, F. Minor and trace elements in different honey types produced in Siena County (Italy). **Food Chemistry**, v. 107, n. 4, p. 1553–1560, abr. 2008.
- POPEK, S.; HALAGARDA, M.; KURSA, K. A new model to identify botanical origin of Polish honeys based on the physicochemical parameters and chemometric analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 482–487, 2017.
- PRIMIERY, S.; DALLA COSTA, M.; STROSCHEIN, M. R. D.; STOCCO, P.; SANTOS, J. C. P.; ANTUNES, P. M. Variability in symbiotic effectiveness of N-2 fixing bacteria in *Mimosa scabrella*. **Applied Soil Ecology**, v. 102, p. 19–25, jun. 2016.
- RIZELIO, V. M.; GONZAGA, L. V.; BORGES, G. da S. C.; MALTEZ, H. F.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Fast determination of cations in honey by capillary electrophoresis: A possible method for geographic origin discrimination. **Talanta**, v. 99, p. 450–456, 2012.
- SERAGLIO, S. K. T.; VALESE, A. C.; DAGUER, H.; BERGAMO, G.; AZEVEDO, M. S.; NEHRING, P.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds, minerals, and antioxidant capacity of *Mimosa scabrella* Bentham honeydew honeys. **Food Research International**, v. 99, p. 670–678, 2017.
- VANHANEN, L. P.; EMMERTZ, A.; SAVAGE, G. P. Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. **Food chemistry**, v. 128, n. 1, p. 236–40, 1 set. 2011.
- WOLFF, V. R. dos S.; WITTER, S.; LISBOA, B. B. Reporte de *Stigmatococcus paranaensis* Foldi (Hemiptera, Stigmatococcidae), insecto escama asociado con la producción de miel de mielato en Rio Grande do Sul, Brasil. **Insecta Mundi**, n. 434, p. 1–7, 2015.

**CAPÍTULO 4 - CARACTERIZAÇÃO CROMÁTICA
ASSOCIADA À ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA PARA
DIFERENCIAÇÃO ENTRE MÉIS DE MELATO DE
BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham) E FLORAIS: UMA
TÉCNICA SIMPLES, FÁCIL E DE BAIXO CUSTO**

Esse capítulo foi baseado no artigo intitulado “*Authentication and fraud verification in fresh honeydew honey: A new model based on colour parameters*”, submetido na Revista “*Journal of Food Science and Technology*” (ISSN: 0975-8402).

CAPÍTULO 4 - CARACTERIZAÇÃO CROMÁTICA ASSOCIADA À ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA PARA DIFERENCIAÇÃO ENTRE MÉIS DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham) E FLORAIS: UMA TÉCNICA SIMPLES, FÁCIL E DE BAIXO CUSTO

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo diferenciar méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) de méis florais, com e sem tratamento térmico, e méis de melato de bracatinga adulterados com méis florais nas proporções de 5, 15 e 25% (m/m) de méis florais, utilizando caracterização cromática associada à análise quimiométrica. O mel de melato de bracatinga apresentou características cromáticas únicas e incomuns quando comparado aos méis florais. Assim, a partir da análise de componentes principais foi possível diferenciar as duas distintas classes de mel. Adicionalmente, foi desenvolvido um modelo de Árvore de Classificação e Regressão de dados - C&RT - para estabelecer regras claras que caracterizassem cada grupo de mel. O modelo proposto classificou corretamente as amostras de mel de melato de bracatinga e florais, com e sem tratamento térmico. Apenas duas amostras adulteradas com 5% de mel floral foram erroneamente classificadas. A análise cromática associada à análise quimiométrica mostrou perspectivas promissoras para a sua exploração, podendo ser utilizada para triagem e seleção de mel de bracatinga, fresco ou tratado termicamente, bem como para detecção de fraudes.

Palavras-chave: CIELAB, Árvore de Classificação e Regressão de dados - C&RT, Análise de Componentes Principais.

1 INTRODUÇÃO

O mel é uma substância doce produzida pelas abelhas, geralmente do gênero *Apis mellifera*, a partir do néctar das flores ou de secreções de partes vivas de plantas e de excreções de insetos sugadores de plantas. Méis oriundos do néctar são conhecidos como méis florais enquanto que os méis provenientes de secreções ou excreções são conhecidos como méis de melato (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EUROPEAN COMMISSION, 2002).

Méis de melato geralmente diferenciam-se de méis de florais por apresentarem maiores valores de pH, condutividade elétrica, cinzas, di e tri sacarídeos, proteínas e menor teor de monossacarídeos, além da cor mais escura e características sensoriais peculiares (MATEO; BOSCH-REIG, 1998; BOGDANOV *et al.*, 2004; ESCUREDO *et al.*, 2013). Ainda, méis de melato apresentam características específicas da região onde são produzidos, pois seus atributos dependem da planta predominante do local e da espécie do inseto sugador da seiva que dará origem a excreção utilizada pelas abelhas. Na Grécia e na Turquia, por exemplo, a excreção é oriunda principalmente do mutualismo entre o inseto *Marchalina hellenica* e árvores da espécie *Pinus* spp., nos Estados Unidos é proveniente do inseto *Xylococcus macrocarpae* que se alimenta da seiva de *Calocedrus decurrens*. No México, o mutualismo ocorre entre o inseto *Stigmacoccus garmilleri* e a árvore *Quercus* spp. e na Nova Zelândia, a excreção é oriunda do inseto *Ultracoelostoma assimile* que se alimenta da seiva da planta *Nothofagus* (WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015).

No Brasil, existe a produção de um tipo único de mel de melato, obtido a partir do mutualismo entre a árvore bracatinga (*Mimosa Scabrella* Bentham) e insetos sugadores de plantas, principalmente dos gêneros *Tachardiella* sp. e *Stigmacoccus* sp. (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014; WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015). Esses insetos alimentam-se da seiva da árvore de bracatinga e, por conseguinte, liberam uma excreção sacarínica que é utilizado pelas abelhas para produção do mel. Esse mutualismo e, consequentemente, a produção de mel de melato de bracatinga, ocorre normalmente nos meses de março a julho e apenas a cada dois anos, coincidindo com os anos pares, o que corresponde ao ciclo reprodutivo desses insetos (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014). Embora suas propriedades ainda não tenham sido bem elucidadas, reconhece-se que o mel de melato de bracatinga possui propriedades nutricionais únicas, como aminoácidos livres (AZEVEDO *et al.*, 2017) e quantidades

bioacessíveis de minerais e compostos fenólicos (SERAGLIO *et al.*, 2017).

A crescente demanda e consumo de méis de melato pelos consumidores e pela indústria de alimentos suscitaram preocupação com sua autenticidade (CASTRO-VÁZQUEZ; DÍAZ-MAROTO; PÉREZ-COELLO, 2006). Uma prática fraudulenta que pode ser realizada é a adição de méis florais de baixo valor comercial para aumentar o rendimento. Dessa forma, vários estudos vêm sendo realizados utilizando a associação dos parâmetros físico-químicos (POPEK, 2002; MANZANARES *et al.*, 2011; POPEK; HALAGARDA; KURSA, 2017), bem como a identificação de marcadores específicos (SANZ *et al.*, 2005; CASTRO-VÁZQUEZ; DÍAZ-MAROTO; PÉREZ-COELLO, 2006; MANZANARES *et al.*, 2011; SIMOVA *et al.*, 2012) como forma de garantir a autenticidade desses méis. Consequentemente, alguns métodos e técnicas analíticas sofisticadas já foram utilizados para a autenticidade de mel de melato como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS, do inglês “*gas chromatography mass spectrometry*”) (SORIA *et al.*, 2004; CASTRO-VÁZQUEZ; DÍAZ-MAROTO; PÉREZ-COELLO, 2006), espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS, do inglês “*inductively coupled plasma mass spectrometry*”), (MADEJCZYK; BARALKIEWICZ, 2008; BONTEMPO *et al.*, 2017) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (qNMR, do inglês “*nuclear magnetic resonance spectrometer*”) (SIMOVA *et al.*, 2012; KORTESNIEMI *et al.*, 2016), que geralmente possuem custo elevado, requerem estrutura específica, profissionais treinados e geram elevada quantidade de resíduo químico. Portanto, a diferenciação de méis usando tecnologia limpa e de baixo custo ainda são desafios a serem alcançados na área de ciência, tecnologia e engenharia de alimentos.

A cor do mel é diretamente influenciada pela sua origem botânica (GONZALES; BURIN; BUERA, 1999; TERRAB *et al.*, 2004; TERRAB; GONZÁLEZ-MIRET; HEREDIA, 2004; BELAY *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2016), atividade antioxidante e teor de minerais (BOGDANOV *et al.*, 2004; GONZÁLEZ-MIRET *et al.*, 2005; BERTONCELJ *et al.*, 2007; MCCOMB; FREW, 2013; ÖZCAN; ÖLMEZ, 2014; KUŚ; VAN RUTH, 2015). Assim, alguns estudos já foram publicados explorando a diferenciação de méis utilizando parâmetros físico-químicos associados à análise cromática (TERRAB; DIEZ; HEREDIA, 2002; BERTONCELJ *et al.*, 2007; GONZÁLEZ-MIRET *et al.*, 2007). No entanto, a investigação do uso específico dos parâmetros de cor para a distinção entre diferentes tipos de mel é escassa

principalmente porque os tratamentos térmicos usados no processamento do mel também podem afetar a cor do produto (BELAY *et al.*, 2015). Assim, é muito importante que os métodos de classificação envolvendo parâmetros de cor sejam validados com amostras submetidas a tratamento térmico prévio.

Entre as técnicas utilizadas para avaliar a cor do mel, as mais empregadas são baseadas no sistema internacional CIELAB (Terrab *et al.*, 2003; CIE, 2004; Bertoneclj *et al.*, 2007; Nayik e Nanda, 2016). O sistema CIELAB avalia as intensidades de cor para o atributo luminosidade (L^*) e as coordenadas a^* e b^* , as quais referem-se à intensidade da cor verde para vermelho e azul para amarelo, respectivamente. Chroma (C^*_{ab}) representa os atributos da cor referente à cromaticidade e o ângulo de matiz (h^*_{ab}) representa atributos da cor referente à tonalidade, ambos derivados dos parâmetros a^* e b^* (SOUTHWORTH; SOUTHWORTH, 1996; JHA, 2010; MCGRATH; BECK; HILL, 2017).

Devido aos escassos estudos relacionados à exploração dos parâmetros de cor na diferenciação, autenticidade e detecção de fraudes de méis, principalmente em mel de melato, o objetivo deste trabalho foi caracterizar os méis de melato de bracatinga (puros e adulterados em laboratório com adição de mel floral nas proporções de 5 %, 10 % e 15 %) e méis florais em relação aos atributos de cor e diferenciar cada grupo de mel por meio de análise quimiométrica. Além disso, méis tratados termicamente foram submetidos às análises colorimétricas a fim de validar a análise quimiométrica proposta.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras

As amostras de mel de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham) e de mel floral foram coletadas no ano de 2016 a partir de diferentes cidades do planalto serrano do Estado de Santa Catarina (Brasil) (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 – Amostras de mel de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham) e mel floral coletadas no planalto serrano catarinense.

Amostra	Mês/ano	Cidade	Latitude	Longitude	Altitude
M1, M2	agosto/2016	Bom Retiro	27° 47' 50"	49° 29' 21"	890
M3, M4, M5	março/2016	Bocaina do Sul	27° 44' 40"	49° 56' 40"	860
M6	abril/2016	Lages	27° 49' 0"	50° 19' 35"	930
M7	maio/2016	Lages	27° 49' 0"	50° 19' 35"	930
M8, M9	junho/2016	São Joaquim	28° 26' 13"	49° 95' 6"	1217
M10, M11, M12	maio/2016	Urubici	28° 1' 39"	49° 36' 45"	1087
M13	agosto/2016	Urubici	28° 1' 39"	49° 36' 45"	1087
M14	abril/2016	Urupema	28° 17' 38"	49° 55' 54"	1342
M15, M16	maio/2016	Urupema	28° 17' 38"	49° 55' 54"	1342
F1, F2	abril/2016	Bom Retiro	27° 47' 50"	49° 29' 21"	890
F3, F4	novembro/2016	Bom Retiro	27° 47' 50"	49° 29' 21"	890
F5	janeiro/2016	São Bonifácio	27° 54' 05"	48° 55' 45"	410
F6	setembro/2016	São Bonifácio	27° 54' 05"	48° 55' 45"	410
F7, F8	novembro/2016	Lages	27° 49' 0"	50° 19' 35"	930
F9	setembro/2016	Lages	27° 49' 0"	50° 19' 35"	930
F10	novembro/2016	Lages	27° 49' 0"	50° 19' 35"	930
F11, F13	outubro/2016	São Joaquim	28° 26' 13"	49° 95' 6"	1217
F12	março/2016	São Joaquim	28° 26' 13"	49° 95' 6"	1217
F14	agosto/2016	São Joaquim	28° 26' 13"	49° 95' 6"	1217
F15	novembro/2016	São Joaquim	28° 26' 13"	49° 95' 6"	1217
F16, F17, F18, F19	novembro/2016	Urubici	28° 1' 39"	49° 36' 45"	1087
F20, F22	janeiro/2016	Urupema	28° 17' 38"	49° 55' 54"	1342

Continua

Amostra	Mês/ano	Cidade	Latitude	Longitude	Altitude
F21	abril/2016	Urupema	28° 17' 38"	49° 55' 54"	1342
F23	junho/2016	Urupema	28° 17' 38"	49° 55' 54"	1342
F24	setembro/2016	Alfrego Wagner	27° 42' 01"	49° 20' 01"	480
F25	janeiro/2016	Painel	27° 55' 44"	50° 06' 18"	1144

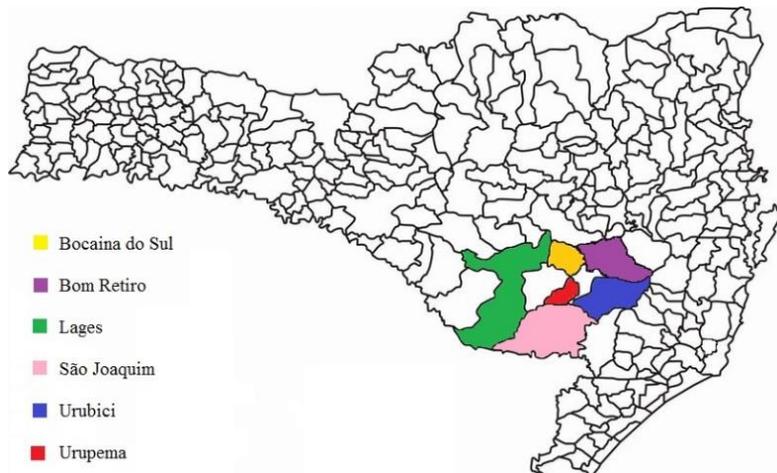
Legenda: M – Mel de melato de bracatinga. F – Mel floral. Altitude é dada em metros.

Fonte: A Autora.

2.1.1 Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham)

As amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) foram coletadas em seis municípios do Estado de Santa Catarina, em parceria com apicultores locais (Figura 15). Os apiários foram mantidos em área com vegetação predominante de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) sendo observada a presença de excreções de cochonilha no caule das plantas no período anterior à colheita dos favos.

Figura 4.1 – Mapa do Estado de Santa Catarina: localização das cidades onde foram realizadas as coletas de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham).



Fonte: A Autora.

Foram coletados de um a dois favos de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) de cada apiário (Figura 4.2) que imediatamente foram encaminhados ao Laboratório de Análise Química de Alimentos, do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (CAL) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) onde foram drenados manualmente (Figura 4.2, esquerda) e o mel obtido foi filtrado com auxílio de gaze (Figura 4.2 direita) a fim de retirar possíveis resíduos sólidos.

Figura 4.2 – Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) em favo.



Fonte: A Autora.

Figura 4.3 – Drenagem (esquerda) e filtração (direita) dos méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham).

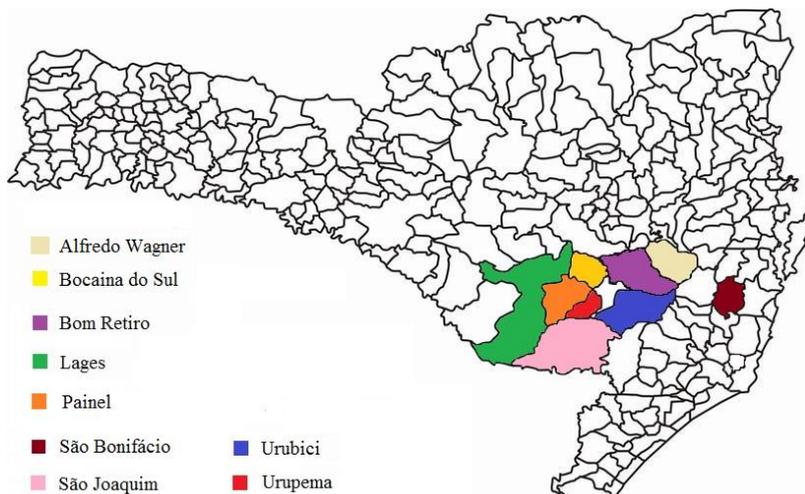


Fonte: A Autora.

2.1.2 Amostras de méis florais

As 25 amostras de méis florais foram adquiridas em favos, assim como as amostras de mel de melato, sendo submetidas ao mesmo processo de drenagem e filtração. As amostras foram coletadas em oito cidades do estado de Santa Catarina (Figura 4.4), em parceria com produtores locais.

Figura 4.4 – Mapa do Estado de Santa Catarina: localização das cidades onde foram realizadas as coletas de mel floral.



Fonte: A Autora.

O frescor de todas as amostras foi garantido por meio da coleta das amostras diretamente com os apicultores e de análises físico-químicas que avaliaram parâmetros de identidade e qualidade (Dados apresentados no Capítulo 2).

2.1.3 Adulteração das amostras

Para simular um possível processo de adulteração das amostras, uma amostra de mel de bracatinga pura foi misturada com três amostras de mel floral em diferentes concentrações: 95:5 (m/m), 85:15 (m/ m) e 75:25 (m/m), respectivamente, resultando em nove amostras adulteradas (Tabela 4.2).

Tabela 4.2- Amostras de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) adulterados com mel floral.

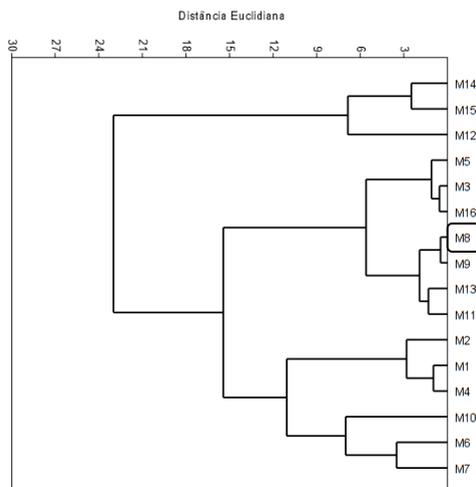
Amostra	Mistura (m/m)	Amostra	Mistura (m/m)
MF1	M8 + F10 (95:5)	MF6	M8 + F14 (75:25)
MF2	M8 + F10 (85:15)	MF7	M8 + F18 (95:5)
MF3	M8 + F10 (75:25)	MF8	M8 + F18 (85:15)
MF4	M8 + F14 (95:5)	MF9	M8 + F18 (75:25)
MF5	M8 + F14 (85:15)	MF7	M8 + F18 (95:5)

Legenda: MF – Amostra de mel de melato de bracatinga adulterada com mel floral. M – mel de melato de bracatinga. F – Mel floral.

Fonte: A Autora.

Cada amostra de mel utilizada a partir das misturas foi selecionada como representativa de diferentes subgrupos de mel formados pela análise de agrupamento usando o método de separação de Ward, calculado usando a distância euclidiana (Figuras 4.5 e 4.6).

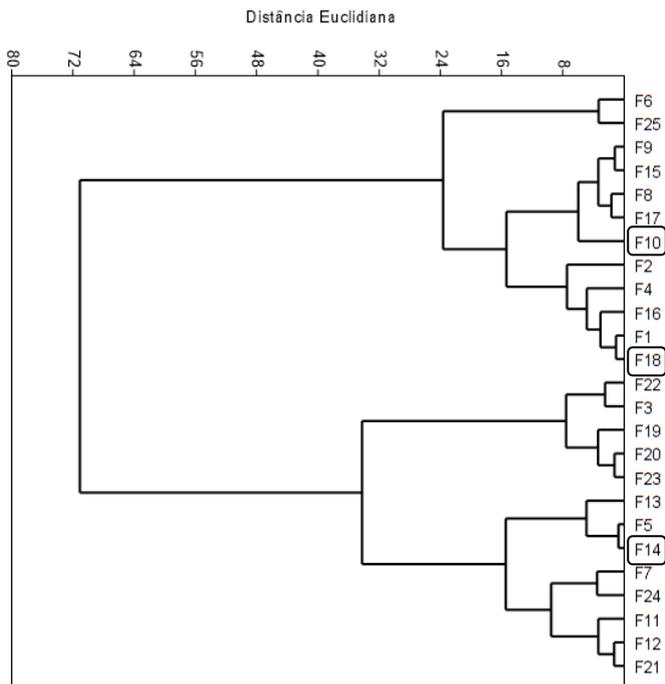
Figura 4.5 - Análise de agrupamento para méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) utilizando o método de separação de Ward e calculada considerando a distância euclidiana.



Legenda: M – Mel de melato de bracatinga. A amostra grifada com um retângulo foi selecionada para o ensaio de adulteração artificial das amostras.

Fonte: A Autora.

Figura 4.6 - Análise de agrupamento para méis de origem floral utilizando o método de separação de Ward e calculada considerando a distância euclidiana.



Legenda: F – Mel floral. As amostras grifadas com um retângulo vermelho foram selecionadas para o ensaio de adulteração artificial das amostras.

Fonte: A Autora.

2.2 Tratamento térmico aplicado às amostras

Para avaliar os efeitos do aquecimento nas características cromáticas do mel, todas as amostras foram submetidas a tratamento térmico por dois processos distintos:

a) 45 °C por 48 horas: processo comumente realizado pelos apicultores para tornar o mel líquido e fácil para manipular (ESCRICHE *et al.*, 2009);

b) 80 °C por 4 minutos: pasteurização aplicada principalmente pelas empresas que embalam o mel, a fim de eliminar as leveduras que causam fermentação indesejada e retardar a cristalização do produto (EUROPEAN COMMISSION, 2013; ESCRICHE *et al.*, 2014).

Os dois processos foram realizados em banho-maria e um termômetro foi usado para monitorar a temperatura da amostra. O tempo começou a ser considerado a partir do momento em que a temperatura esperada foi alcançada. Após o arrefecimento até a temperatura ambiente ($25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$), as amostras foram submetidas a análise cromática.

2.3 Análise cromática

A cor do mel foi avaliada por meio de um colorímetro (Chroma Meter CR-400, Konica Minolta, Tóquio, Japão) ajustado para operar com o iluminante D65 e 2° de ângulo de observação. As amostras de mel previamente homogeneizadas e sem diluição foram colocadas em cubetas de poliestireno, com um percurso óptico de 10 mm, e os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) foram mensurados contra um fundo branco. Os parâmetros Chroma (C^*_{ab}) e ângulo hue (h^*_{ab}) foram determinados de acordo com o proposto pela Comissão Internacional da Eclairage (CIE, 2004) e (JHA, 2010).

2.4 Análise quimiométrica

Os ensaios foram realizados em triplicata para cada amostra, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. A análise de componentes principais foi utilizada para explicar e interpretar a interdependência dos dados obtidos na análise cromática.

O modelo de Árvore de Classificação e Regressão de dados - C&RT (do inglês “*classification and regression trees*”) foi desenvolvido com o uso dos parâmetros L^* , a^* , b^* , C^*_{ab} e h^*_{ab} a fim de diferenciar as distintas classes de mel. Nesse modelo, uma estrutura de árvore representa o conjunto de dados, que é dividido em subconjuntos, sucessivamente, até que algum critério específico seja satisfeito (BELL, 1996).

Os “*softwares*” Statistica® versão 10 e Paleontological Statistics® (Past) versão 2.16 foram utilizados para realizar as análises estatísticas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise colorimétrica das amostras de mel de melato de bracatinga puro e de méis florais são mostrados na Tabela 4.3. Os valores de L^* , b^* , C^*_{ab} e h^*_{ab} observados foram predominantemente superiores nos méis florais, enquanto que apenas o parâmetro a^* apresentou maiores valores para méis de melato de bracatinga.

Tabela 4.3 – Análise colorimétrica de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) puro e méis florais.

Amostra	L^*	a^*	b^*	C^*_{ab}	h^*_{ab}
M1	27,37±0,21	16,82±0,05	12,01±0,22	20,67±0,17	35,53±0,41
M2	24,48±0,01	15,49±0,16	11,12±0,02	19,09±0,13	35,77±0,28
M3	27,50±0,47	17,03±0,01	13,28±0,02	21,60±0,00	37,95±0,05
M4	26,95±0,48	16,15±0,01	11,93±0,06	20,08±0,03	36,45±0,15
M5	27,60±0,38	16,56±0,10	12,98±0,36	21,04±0,30	38,10±0,60
M6	26,28±0,01	14,24±0,03	12,44±0,12	18,91±0,08	41,13±0,29
M7	26,85±0,00	11,95±0,01	11,91±0,00	16,87±0,00	44,92±0,01
M8	28,06±0,01	16,99±0,18	14,79±0,02	22,53±0,14	41,04±0,31
M9	28,04±0,44	17,28±0,15	14,74±0,02	22,71±0,11	40,47±0,25
M10	21,01±0,01	15,29±0,04	12,39±0,32	19,68±0,18	39,00±0,80
M11	27,77±0,01	16,98±0,04	15,62±0,13	23,07±0,11	42,60±0,22
M12	22,80±0,01	11,31±0,06	6,60±0,06	13,09±0,07	30,28±0,16
M13	27,91±0,15	17,56±0,10	15,21±0,25	23,23±0,22	40,90±0,38
M14	25,98±0,19	15,12±0,11	9,71±0,11	17,97±0,15	32,69±0,13
M15	26,01±0,18	13,54±0,05	9,67±0,01	16,64±0,04	35,53±0,11
M16	27,62±0,68	17,42±0,31	13,64±0,01	22,12±0,24	38,06±0,48
F1	42,92±0,01	6,71±0,03	33,11±0,98	33,78±0,96	78,54±0,35
F2	42,61±0,00	3,75±0,07	30,57±0,60	30,80±0,59	83,00±0,27
F3	38,64±0,65	8,59±0,10	30,98±1,10	32,14±1,03	74,49±0,69
F4	43,41±0,50	5,13±0,07	35,21±0,02	35,58±0,02	81,71±0,12
F5	34,92±0,62	16,24±0,11	26,41±1,04	31,01±0,94	58,40±0,85
F6	49,88±0,46	1,93±0,06	30,77±0,59	30,83±0,59	86,40±0,13
F7	34,78±0,21	12,89±0,07	21,56±0,31	25,12±0,28	59,14±0,33

Continua

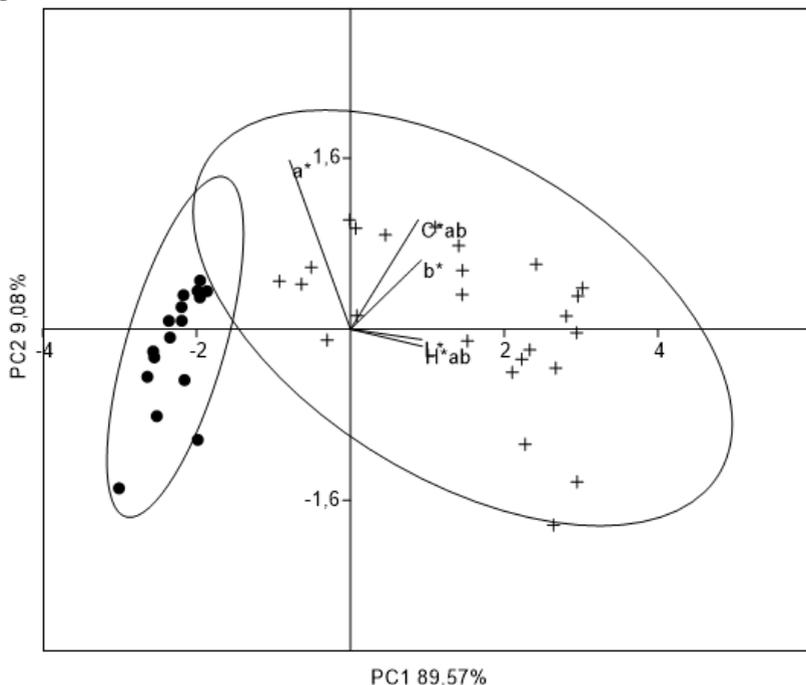
Amostra	L*	a*	b*	C* _{ab}	h* _{ab}
F8	44,33±0,34	6,61±0,07	37,43±0,01	38,00±0,01	79,98±0,10
F9	45,40±0,02	7,02±0,02	38,61±0,20	39,24±0,01	79,70±0,03
F10	43,00±0,49	9,28±0,08	37,21±0,04	38,35±0,03	75,99±0,12
F11	30,33±0,71	15,65±0,22	20,82±0,13	26,05±0,17	53,07±0,43
F12	33,01±0,50	15,56±0,14	22,79±0,91	27,60±0,83	55,65±0,83
F13	37,15±0,51	15,14±0,07	29,89±0,98	30,50±0,89	63,12±0,73
F14	35,24±0,61	15,79±0,11	26,60±1,12	30,94±1,01	59,28±0,89
F15	44,41±0,30	6,89±0,04	39,54±0,76	40,14±0,74	80,12±0,24
F16	40,33±0,24	6,13±0,02	32,79±0,90	33,36±0,89	79,41±0,25
F17	43,58±0,01	5,47±0,10	37,91±0,01	38,30±0,02	81,80±0,14
F18	44,16±0,00	6,95±0,05	33,62±0,27	34,33±0,26	78,32±0,13
F19	38,93±0,38	13,66±0,05	31,75±0,80	34,56±0,76	66,72±0,46
F20	39,96±0,52	12,35±0,07	32,72±1,24	34,98±1,18	69,31±0,67
F21	32,83±0,19	15,27±0,04	21,65±0,18	26,49±0,15	54,81±0,23
F22	38,82±0,00	10,36±0,06	31,94±0,00	33,58±0,02	72,04±0,09
F23	40,26±0,00	11,43±0,03	32,20±0,01	34,17±0,02	70,45±0,04
F24	35,09±0,01	12,78±0,04	24,42±0,02	27,56±0,03	62,38±0,06
F25	47,57±0,01	1,07±0,06	28,16±0,01	28,18±0,01	87,83±0,12

Legenda: M – Mel de melato de bracatinga. F – Mel floral. L* – Luminosidade. a* – Intensidade de cor verde (valores negativos) e vermelha (valores positivos). b* – Intensidade de cor azul (valores negativos) e amarela (valores positivos). C*_{ab} – Chroma. h_{ab} – Ângulo de matiz.

Fonte: A Autora.

Estes resultados sugerem uma diferença na composição de cor dos méis, indicando que o mel de melato de bracatinga possui um perfil cromático específico, possivelmente capaz de diferenciá-lo dos méis florais produzidos na mesma localização geográfica e em períodos similares. Para avaliar essa possível diferença, as amostras foram submetidas à Análise de Componentes Principais (Figura 4.7), sendo possível observar, de fato, a formação de dois grandes grupos: um deles composto apenas por méis de melato de bracatinga, e o outro constituído por méis florais. Ainda, as componentes principais (PCs) 1 e 2 representam juntas 98,65% da variabilidade total dos dados.

Figura 4.7 – Análise de componentes principais de amostras de mel de melato de bracatinga puras e méis florais utilizando como variáveis os parâmetros colorimétricos L^* , a^* , b^* , C^*_{ab} e h^*_{ab} .



Legenda: ● Mel de melato de bracatinga. + Méis florais. L^* – Luminosidade. a^* – Intensidade de cor verde a vermelha (valores positivos). b^* – Intensidade de cor azul a amarela. C^*_{ab} – Chroma. h^*_{ab} – Ângulo de matiz.

Fonte: Adaptado de

Esse comportamento demonstra que os dois tipos de mel foram bem diferenciados pelas suas características cromáticas. Ainda, a PC 1 foi o principal fator responsável pela variância dos dados (89,57%). A grande dispersão de méis florais na PCA está possivelmente relacionada às suas características cromáticas variáveis, resultantes das distintas fontes de néctar. Entretanto, o mel de melato de bracatinga apresenta características cromáticas semelhantes, embora produzidas em locais distintos, reforçando o conceito de que essa característica é exclusiva desse tipo específico de mel, permitindo assim a sua diferenciação.

Uma vez observado que o mel de melato de bracatinga e o mel floral apresentavam diferentes características cromáticas, este perfil foi

avaliado como um possível marcador de autenticidade para os méis de melato de bracinga. Assim, os méis florais foram adicionados ao mel de bracinga como forma de simular adulterações, nas concentrações de 5, 10 e 15% (m/m), e a caracterização cromática foi realizada (Tabela 4.4).

Tabela 4.4 – Análise colorimétrica de mel de melato de bracinga adulterado com méis florais.

Amostra	L*	a*	b*	C* _{ab}	h* _{ab}
MF1	26,05±0,01	15,29±0,06	13,02±0,01	20,08±0,05	40,40±0,10
MF2	28,56±0,43	16,72±0,18	15,30±0,01	22,66±0,14	42,46±0,31
MF3	31,34±0,20	17,32±0,04	19,70±0,00	26,23±0,03	48,68±0,08
MF4	27,26±0,01	16,71±0,31	14,27±0,01	21,97±0,23	40,50±0,52
MF5	28,97±0,01	16,72±0,02	15,21±0,13	22,60±0,09	42,30±0,24
MF6	29,60±0,01	17,21±0,01	17,41±0,08	24,48±0,05	45,33±0,15
MF7	28,27±0,79	16,47±0,04	14,63±0,03	22,03±0,01	41,62±0,13
MF8	29,01±0,01	17,11±0,09	16,85±0,02	24,01±0,01	44,56±0,05
MF9	30,50±0,01	18,53±0,02	18,74±0,01	26,35±0,01	45,33±0,04

Legenda: MF – Mel de melato de bracinga adulterado com mel floral. L* – Luminosidade. a* – Intensidade de cor verde (valores negativos) e vermelha (valores positivos). b* – Intensidade de cor azul (valores negativos) e amarela (valores positivos). C*_{ab} – Chroma. h*_{ab} – Ângulo de matiz.

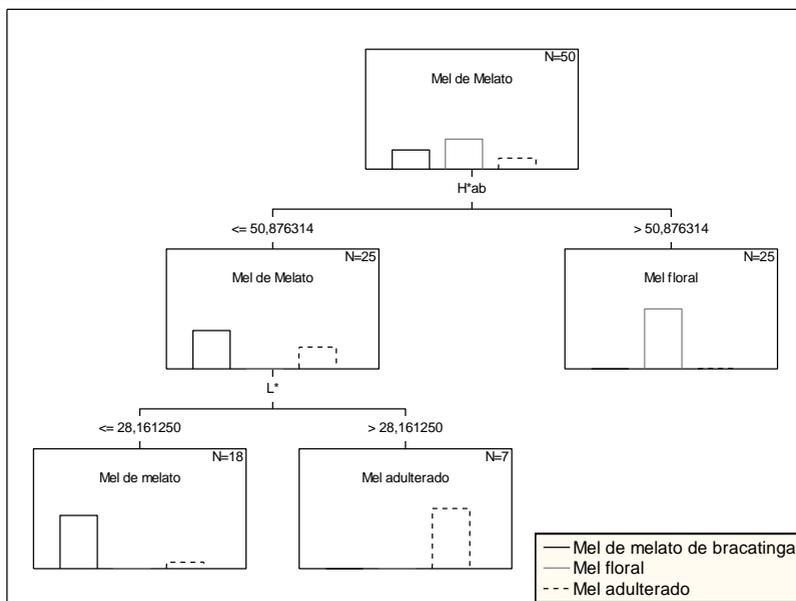
Fonte: A Autora.

A luminosidade (L*) do mel de melato de bracinga adulterado foi maior nas amostras com 25% (m/m) de mel floral (amostras MF3, MF6 e MF9). Essa mesma tendência também foi observada para os parâmetros a*, b*, C*_{ab} e h*_{ab}, em que as amostras de mel de melato de bracinga com adição de maior percentual de mel floral apresentaram os maiores valores para esses parâmetros. Esse comportamento era esperado, uma vez que os méis florais apresentaram valores elevados para quase todos os parâmetros cromáticos avaliados quando comparados aos méis de melato.

Para uma avaliação mais robusta, o modelo de Árvore de Classificação e Regressão - C&RT - foi utilizada buscando a diferenciação das amostras de mel em três grupos: méis de melato de bracinga (puros e adulterados) e méis florais (Figura 4.8). Para a construção do modelo, apenas o uso dos parâmetros L*, a*, b*, C*_{ab} e h*_{ab} foram necessários para garantir um bom modelo de predição. O

modelo de classificação foi obtido utilizando a medida de Gini de impureza do nó e o método da poda de desvantagem mínima foi aplicado.

Figura 4.8 – Modelo de Árvore de Classificação e Regressão - C&RT- utilizando os parâmetros colorimétricos L^* , a^* , b^* , C^*_{ab} e h^*_{ab} como variáveis.



Legenda: N – número de amostras classificadas.

Fonte: A Autora.

De acordo com o modelo de classificação desenvolvido, considerando mel de melato de bracatinga (puro e adulterado) e méis florais, a amostra de mel deve satisfazer uma das seguintes condições:

- Mel de melato de bracatinga: valor de h^*_{ab} menor que 50,876314 e valor de L^* menor ou igual a 28,161250;
- Mel de melato de bracatinga misturado com mel floral (proporção superior a 5% de mel floral): valor de h^*_{ab} menor que 50,876314 e valor de L^* maior que 28,161250;
- Mel floral: valor de h^*_{ab} maior que 50,876314.

Uma matriz de classificação foi construída para avaliar a representação efetiva da estrutura do conjunto de dados obtida através do modelo de classificação proposto (Tabela 4.5).

Tabela 4.5 – Matriz de classificação para o modelo de Árvore de Classificação Regressão - C&RT - proposto para a distinção de méis de melato de bracatinga, méis florais e méis de melato de bracatinga adulterado com mel floral.

	Predito M	Predito F	Predito MF
Observado M	16/16	0/0	0/0
Observado F	0/0	20/20	0/0
Observado MF	2/0	0/0	25/27

Legenda: M – Mel de melato de bracatinga. F – Mel floral. MF – Mel de melato de bracatinga adulterado com mel floral. Observado/Predito - número de observações no conjunto de dados / número previsto de observações.

Fonte: A Autora.

De acordo com a matriz de classificação, é possível observar que o modelo de classificação proposto foi capaz de classificar corretamente o mel de melato de bracatinga e as amostras de mel floral. Apenas duas amostras adulteradas com 5% de mel floral foram erroneamente classificadas (MF1 e MF4). Estes resultados indicam que o modelo desenvolvido é confiável e pode ser utilizado para classificar as méis de melato de bracatinga e méis florais, assim como o mel de bracatinga adulterado, especialmente quando adicionado com mais de 10% de mel floral.

A caracterização cromática das amostras submetidas ao processamento térmico estão demonstradas nas Tabelas 4.6 e 4.7.

Tabela 4.6 - Análise colorimétrica de méis de melato de bracatinga e méis florais submetidos a tratamentos térmicos de 45°C por 48 horas.

Tratamento térmico das amostras a 45 °C por 48 horas					
Amostra	L*	a*	b*	C* _{ab}	h* _{ab}
M1	26.37±0.00	16.99±0.01	11.88±0.02	20.73±0.00	34.96±0.05
M2	24.78±0.01	15.94±0.33	11.05±0.02	19.39±0.27	34.74±0.56
M3	27.82±0.01	17.57±0.26	13.81±0.02	22.34±0.27	38.17±0.43

Continua

Tratamento térmico das amostras a 45 °C por 48 horas					
Amostra	L*	a*	b*	C* _{ab}	h* _{ab}
M4	27.02±0.61	16.93±0.08	12.13±0.02	20.83±0.06	35.62±0.17
M5	27.68±0.00	17.29±0.32	13.28±0.75	21.80±0.71	37.50±1.06
M6	25.86±0.01	15.58±0.13	11.47±0.33	19.35±0.30	36.36±0.59
M7	26.92±0.06	11.04±0.01	12.08±0.04	16.36±0.03	47.58±0.03
M8	27.69±0.18	17.42±0.08	14.89±0.04	22.92±0.06	40.52±0.17
M9	27.62±0.01	17.41±0.03	13.84±0.03	22.23±0.01	38.48±0.12
M10	20.43±0.01	16.29±0.01	12.67±0.77	20.64±0.47	37.85±1.68
M11	28.11±0.79	17.43±0.35	15.47±0.01	23.31±0.27	41.59±0.57
M12	23.42±0.00	11.40±0.19	6.44±0.50	13.10±0.41	29.43±1.50
M13	27.90±0.79	17.61±0.37	15.15±0.04	23.23±0.29	40.70±0.59
M14	25.61±0.02	15.26±0.27	9.78±0.67	18.13±0.14	32.64±2.24
M15	25.47±0.94	14.43±0.24	9.66±0.02	17.36±0.20	33.80±0.45
M16	27.33±0.31	17.40±0.18	13.32±0.34	21.91±0.27	37.43±0.74
F1	43.10±0.00	7.40±0.04	34.04±0.01	34.83±0.01	77.74±0.06
F2	47.75±0.03	4.74±0.02	35.49±0.13	35.81±0.13	82.39±0.04
F3	41.43±0.44	10.47±0.03	35.46±1.05	36.97±1.01	73.54±0.43
F4	43.54±0.09	5.94±0.02	34.83±1.18	35.34±1.17	80.32±0.33
F5	34.93±0.70	16.88±0.21	26.18±1.30	31.15±1.20	57.16±0.98
F6	49.31±0.34	2.44±0.06	30.96±0.60	31.06±0.59	85.50±0.19
F7	35.28±0.27	12.59±0.08	21.12±0.12	24.59±0.15	59.19±0.05
F8	44.86±0.07	6.46±0.13	37.89±0.04	38.43±0.04	80.32±0.18
F9	44.50±0.20	7.73±0.05	37.94±0.01	38.72±0.01	78.48±0.07
F10	43.42±0.42	9.87±0.04	37.63±0.02	38.90±0.02	75.31±0.05
F11	31.07±0.70	16.39±0.22	20.76±0.02	26.45±0.14	51.71±0.38
F12	33.70±0.72	16.18±0.17	23.22±0.07	28.30±0.10	55.13±0.29
F13	36.91±0.00	15.66±0.12	29.53±0.01	33.42±0.06	62.07±0.18
F14	35.23±0.01	16.03±0.01	26.72±0.01	31.16±0.01	59.03±0.01
F15	44.03±0.13	7.51±0.03	38.58±0.23	39.31±0.23	78.98±0.03
F16	40.69±0.00	7.95±0.01	32.73±0.04	33.68±0.04	76.35±0.03
F17	45.28±0.01	6.25±0.06	39.95±0.02	40.44±0.02	81.11±0.08
F18	44.46±0.31	8.12±0.04	34.95±0.01	35.88±0.00	76.91±0.06

Continuação

Tratamento térmico das amostras a 45 °C por 48 horas					
Amostra	L*	a*	b*	C* _{ab}	h* _{ab}
F19	38.62±0.58	14.46±0.13	31.88±1.16	35.01±1.11	65.58±0.60
F20	40.28±0.01	12.96±0.02	31.49±0.10	34.05±0.09	67.63±0.10
F21	32.96±0.01	16.29±0.01	22.85±0.02	28.06±0.02	54.52±0.02
F22	39.24±0.01	11.91±0.05	32.29±0.01	34.41±0.02	69.75±0.07
F23	40.47±0.52	11.98±0.00	32.60±1.10	34.73±1.03	69.81±0.62
F24	36.23±0.02	14.21±0.05	25.75±0.06	29.41±0.04	61.10±0.13
F25	49.74±0.10	1.36±0.02	30.81±0.01	30.84±0.01	87.48±0.03

Conclusão

Legenda: M – Mel de melato de bracinga. F – Mel floral. L* – Luminosidade. a* – Intensidade de cor verde (valores negativos) e vermelha (valores positivos). b* – Intensidade de cor azul (valores negativos) e amarela (valores positivos). C*_{ab} – Chroma. h*_{ab} – Ângulo hue.

Fonte: A Autora.

Tabela 4.7 - Análise colorimétrica de méis de melato de bracinga e méis florais submetidos a tratamentos térmicos a 80°C por 4 minutos.

Tratamento térmico das amostras a 80 °C por 4 minutos					
Amostra	L*	a*	b*	C* _{ab}	h* _{ab}
M1	27.17±0.30	16.85±0.10	11.81±0.30	20.57±0.24	35.01±0.55
M2	24.80±0.01	15.83±0.48	11.35±0.01	19.48±0.39	35.64±0.83
M3	27.53±0.40	17.10±0.02	13.03±0.02	21.50±0.00	37.31±0.09
M4	27.04±0.06	15.53±0.07	11.04±0.02	19.06±0.05	35.40±0.12
M5	27.53±0.00	16.24±0.24	12.23±0.21	20.33±0.32	36.98±0.09
M6	25.79±0.59	14.41±0.15	10.90±0.01	18.07±0.12	37.11±0.28
M7	27.01±0.01	10.90±0.01	12.84±0.03	16.84±0.02	49.67±0.09
M8	27.80±0.01	16.92±0.02	14.27±0.01	22.13±0.01	40.15±0.05
M9	28.07±0.00	17.37±0.12	14.4±0.01	22.61±0.09	39.80±0.20
M10	20.75±0.10	15.87±0.02	12.17±0.15	19.99±0.10	37.47±0.33
M11	28.07±0.01	17.41±0.10	15.07±0.02	23.02±0.07	40.88±0.19
M12	23.62±0.01	10.13±0.09	5.29±0.01	11.43±0.07	27.57±0.27
M13	27.58±0.47	16.90±0.03	14.46±0.02	22.24±0.01	40.55±0.09
M14	25.12±1.04	15.10±0.45	9.93±0.85	18.08±0.84	33.27±1.45

Continua

Tratamento térmico das amostras a 80 °C por 4 minutos					
Amostra	L*	a*	b*	C* _{ab}	h* _{ab}
M15	25.58±0.01	11.46±0.13	11.46±0.13	16.20±0.18	45.00±0.00
M16	27.13±0.86	17.25±0.15	13.18±0.00	21.71±0.12	37.38±0.23
F1	41.67±0.00	6.72±0.00	32.33±0.00	33.02±0.00	78.26±0.01
F2	42.34±0.58	4.00±0.06	30.81±0.88	31.07±0.87	82.61±0.30
F3	37.38±0.58	8.62±0.03	28.64±1.07	29.91±1.03	73.24±0.56
F4	42.64±0.32	5.40±0.03	34.30±0.02	34.72±0.02	81.05±0.05
F5	35.09±0.65	16.70±0.17	26.62±1.23	31.42±1.13	57.87±0.93
F6	49.36±0.45	2.15±0.06	30.60±0.54	30.67±0.54	85.97±0.18
F7	34.47±0.17	13.00±0.12	20.83±0.00	24.55±0.07	58.04±0.25
F8	43.05±0.37	6.84±0.05	37.06±0.00	37.69±0.01	79.54±0.07
F9	44.64±0.00	7.28±0.03	38.34±0.01	39.02±0.01	79.25±0.05
F10	42.55±0.00	9.76±0.04	37.19±0.01	38.45±0.02	75.30±0.05
F11	30.96±0.79	16.47±0.23	20.53±0.01	26.40±0.14	51.40±0.38
F12	32.87±0.46	16.30±0.48	23.61±0.74	28.68±0.88	55.38±0.08
F13	36.57±0.69	15.06±0.12	29.94±0.02	33.51±0.06	63.31±0.19
F14	35.32±0.02	15.79±0.08	26.05±1.18	30.46±1.04	58.74±1.04
F15	44.20±0.57	7.80±0.05	39.42±1.35	40.18±1.33	78.80±0.34
F16	40.28±0.01	6.74±0.02	31.38±0.64	32.09±0.62	77.88±0.23
F17	44.78±0.01	6.89±0.03	38.8±0.01	39.42±0.00	79.94±0.04
F18	44.15±0.00	7.65±0.04	34.56±0.02	35.39±0.02	77.52±0.07
F19	38.57±0.55	14.89±0.01	32.04±1.12	35.34±1.02	65.05±0.77
F20	39.71±0.56	12.56±0.08	32.01±1.07	34.38±1.02	68.56±0.55
F21	32.15±0.59	15.72±0.02	22.36±0.89	27.34±0.72	54.87±1.07
F22	38.54±1.29	11.10±0.03	31.99±0.93	33.86±0.89	70.86±0.48
F23	40.66±0.01	11.57±0.10	32.38±1.11	34.39±1.08	70.33±0.49
F24	36.53±0.61	14.09±0.01	25.24±0.01	28.90±0.01	60.84±0.02
F25	48.34±0.01	1.32±0.02	29.13±0.01	29.16±0.01	87.40±0.05

Legenda: M – Mel de melato de bracatinga. F – Mel floral. L* – Luminosidade. a* – Intensidade de cor verde (valores negativos) e vermelha (valores positivos). b* – Intensidade de cor azul (valores negativos) e amarela (valores positivos). C*_{ab} – Chroma. h*_{ab} – Ângulo hue.

Fonte: A Autora.

Quando analisadas pelo modelo de classificação desenvolvido, foi observado que todas as amostras de mel de melato de bracatinga apresentaram valor de h^*_{ab} menor que 50,876314 e valor de L^* menor ou igual a 28,161250. Já para as amostras de mel floral todos os valores de h^*_{ab} apresentaram-se superiores a 50,876314. Esses resultados demonstram que as amostras aquecidas foram classificadas corretamente em 100% dos casos, indicando que o modelo de classificação proposto neste trabalho também pode ser utilizado com sucesso para amostras submetidas ao aquecimento moderado.

Além disso, é importante observar que o método de classificação proposto pode ser usado para verificação de autenticidade e fraude com facilidade e rapidez por meio da análise cromática, e que este método pode ser realizado em qualquer laboratório, sem a necessidade de equipamentos sofisticados, técnicos treinados ou uso de reagentes químicos podendo ser útil para os apicultores, indústrias e agências de inspeção como parte do processo inicial de triagem de mel de melato de bracatinga.

4 CONCLUSÃO

Neste estudo, o mel de melato de bracinga apresentou características cromáticas peculiares que permitiram sua diferenciação de méis florais produzidos na mesma localização geográfica e durante um período de colheita semelhante.

O modelo de classificação desenvolvido também permitiu a classificação correta das amostras puras, incluindo aquelas que foram submetidas a tratamento térmico. Além disso, o método de classificação proposto foi capaz de diferenciar méis de melato de bracinga contendo mel floral em sua composição, principalmente quando os teores de mel floral eram superiores a 10% da composição total do mel.

Estes resultados demonstram claramente que o perfil de cor, associado à análise quimiométrica, pode ser utilizado para auxiliar na verificação de autenticidade e fraude em mel de melato de bracinga, podendo ser útil no processo inicial de triagem desse mel.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, M. S.; SERAGLIO, S. K. T.; ROCHA, G.; BALDERAS, C. B.; PIOVEZAN, M.; GONZAGA, L. V.; FALKENBERG, D. de B.; FETT, R.; DE OLIVEIRA, M. A. L.; COSTA, A. C. O. Free amino acid determination by GC-MS combined with a chemometric approach for geographical classification of bracatinga honeydew honey (*Mimosa scabrella* Bentham). **Food Control**, v. 78, p. 383–392, ago. 2017.
- BELAY, A.; SOLOMON, W. K. K.; BULTOSSA, G.; ADGABA, N.; MELAKU, S. Botanical origin, colour, granulation, and sensory properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. **Food chemistry**, v. 167, p. 213–9, 15 jan. 2015.
- BELL, J. F. Application of classification trees to the habitat preference of upland birds. **Journal of Applied Statistics**, v. 23, n. 2–3, p. 349–360, 2 jun. 1996.
- BERTONCELJ, J.; DOBERSEK, U.; JAMNIK, M.; GOLOB, T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 822–828, 2007.
- BOGDANOV, S.; RUOFF, K.; PERSANO ODDO, L.; BOGDANOVA, S.; RUOFFA, K.; ODDO, L. P. Physico-Chemical Methods for the Characterisation of Unifloral honeys: A Review. **Apidologie**, v. 35, n. Suppl. 1, p. S4–S17, 2004.
- BONTEMPO, L.; CAMIN, F.; ZILLER, L.; PERINI, M.; NICOLINI, G.; LARCHER, R. Isotopic and elemental composition of selected types of Italian honey. **Measurement**, v. 98, p. 283–289, 2017.
- CASTRO-VÁZQUEZ, L.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; PÉREZ-COELLO, M. S. Volatile composition and contribution to the aroma of spanish honeydew honeys. Identification of a new chemical marker. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 13, p. 4809–4813, 28 jun. 2006.
- CIE. **Colorimetry**. 3. ed. Vienna: Commission Internationale de l'Éclairage, 2004.
- CODEX ALIMENTARIUS. Codex Alimentarius Commission Standards. **Codex Stan 12-1981**, p. 1–8, 2001.
- ESCRICHE, I.; KADAR, M.; JUAN-BORRÁS, M.; DOMENECH, E. Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 142, p. 135–43, 1 jan. 2014.
- ESCRICHE, I.; VISQUERT, M.; JUAN-BORRÁS, M.; FITO, P. Influence of simulated industrial thermal treatments on the volatile fractions of different varieties of honey. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 329–338, jan. 2009.
- ESCUREDO, O.; MÍGUEZ, M.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; CARMEN SEIJO, M. Nutritional value and antioxidant activity of honeys

- produced in a European Atlantic area. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2–3, p. 851–6, 1 jun. 2013.
- EUROPEAN COMMISSION. **European Commission Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey**, 2002.
- EUROPEAN COMMISSION. **Final Report Summary - TOPHONEY (Enhancing the quality attributes of processed honey and avoiding its crystallisation by the application of a non-thermal treatment process)**.
- GONZALES, A. P.; BURIN, L.; BUERA, M. del P. Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. **Food Research International**, v. 32, n. 3, p. 185–191, 1999.
- GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; AYALA, F.; TERRAB, A.; ECHÁVARRI, J. F.; NEGUERUELA, A. I.; HEREDIA, F. J. Simplified method for calculating the vector of honey by application of the characteristic vector method. **Food Research International**, v. 40, n. 8, p. 1080–1086, 2007.
- GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; TERRAB, A.; HERNANZ, D.; FERNÁNDEZ-RECAMALES, M. Á. A.; HEREDIA, F. J. Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 7, p. 2574–2580, 6 abr. 2005.
- JHA, S. N. Colour Measurements and Modeling. In: **Nondestructive Evaluation of Food Quality**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010. p. 17–40.
- KORTESNIEMI, M.; SLUPSKY, C. M.; OLLIKKA, T.; KAUKO, L.; SPEVACEK, A. R.; SJÖVALL, O.; YANG, B.; KALLIO, H. NMR profiling clarifies the characterization of Finnish honeys of different botanical origins. **Food Research International**, v. 86, p. 83–92, ago. 2016.
- KUŚ, P. M.; VAN RUTH, S. Discrimination of Polish unifloral honeys using overall PTR-MS and HPLC fingerprints combined with chemometrics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 69–75, 2015.
- MADEJCZYK, M.; BARALKIEWICZ, D. Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. **Analytica Chimica Acta**, v. 617, n. 1–2, p. 11–7, 9 jun. 2008.
- MANZANARES, A. B.; GARCÍA, Z. H.; GALDÓN, B. R.; RODRÍGUEZ, E. R.; ROMERO, C. D. Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 664–672, maio 2011.
- MATEO, R.; BOSCH-REIG, F. Classification of Spanish unifloral honeys by discriminant analysis of electrical conductivity, color, water content, sugars, and pH. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 393–400, 16 fev. 1998.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. **Bracatinga, mimosa scabrella bentham: cultivo, manejo e usos da espécie.**

Florianópolis: Epagri, 2014.

MCCOMB, K.; FREW, R. Using new analytical approaches to verify the origin of honey. **New Analytical Approaches for Verifying the Origin of Food**, p. 216–242, 2013.

MCGRATH, J. R.; BECK, M.; HILL, M. E. Replicating Red: Analysis of ceramic slip color with CIELAB color data. **Journal of Archaeological Science: Reports**, v. 14, p. 432–438, 2017.

ÖZCAN, M. M.; ÖLMEZ, Ç. Some qualitative properties of different monofloral honeys. **Food Chemistry**, v. 163, p. 212–218, nov. 2014.

POPEK, S. A procedure to identify a honey type. **Food Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 401–406, nov. 2002.

POPEK, S.; HALAGARDA, M.; KURSA, K. A new model to identify botanical origin of Polish honeys based on the physicochemical parameters and chemometric analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 482–487, 2017.

SANZ, M. L.; GONZALEZ, M.; DE LORENZO, C.; SANZ, J.; MARTÍNEZ-CASTRO, I. A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. **Food Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 313–317, jun. 2005.

SERAGLIO, S. K. T.; VALESE, A. C.; DAGUER, H.; BERGAMO, G.; AZEVEDO, M. S.; NEHRING, P.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds, minerals, and antioxidant capacity of *Mimosa scabrella* Bentham honeydew honeys. **Food Research International**, v. 99, p. 670–678, 2017.

SILVA, P. M.; GAUCHE, C.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309–323, 2016.

SIMOVA, S.; ATANASSOV, A.; SHISHINIOVA, M.; BANKOVA, V. A rapid differentiation between oak honeydew honey and nectar and other honeydew honeys by NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1706–10, 1 out. 2012.

SORIA, A. C.; GONZÁLEZ, M.; LORENZO, C. de; MARTÍNEZ-CASTRO, I.; SANZ, J. Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. **Food Chemistry**, v. 85, n. 1, p. 121–130, 2004.

SOUTHWORTH, M.; SOUTHWORTH, D. **Separação de cores em desktop.** São Paulo: Repro, 1996.

TERRAB, A.; DIEZ, M. J.; HEREDIA, F. J. Chromatic Characterisation of Moroccan Honeys by Diffuse Reflectance and Tristimulus Colorimetry --

Non-uniform and Uniform Colour Spaces. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 4, p. 189–195, 2002.

TERRAB, A.; ESCUDERO, M. L.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J. Colour characteristics of honeys as influenced by pollen grain content: a multivariate study. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 4, p. 380–386, mar. 2004.

TERRAB, A.; GONZÁLEZ-MIRET, L.; HEREDIA, F. J. Colour characterisation of thyme and avocado honeys by diffuse reflectance spectrophotometry and spectroradiometry. **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 5, p. 488–492, 1 abr. 2004.

WOLFF, V. R. dos S.; WITTER, S.; LISBOA, B. B. Reporte de *Stigmatococcus paranaensis* Foldi (Hemiptera, Stigmatococcidae), insecto escama asociado con la producción de miel de mielato en Rio Grande do Sul, Brasil. **Insecta Mundi**, n. 434, p. 1–7, 2015.

CAPÍTULO 5: CLASSIFICAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE MEL DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham) POR MEIO DO PERFIL ESPECTROFOTOMÉTRICO ASSOCIADO À ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

Esse capítulo foi baseado no artigo intitulado ‘*Classification of bracatinga honeydew honeys and blossom honeys by spectrometric fingerprint associated with chemometric analysis*’, submetido à Revista “*Food Control*”. ISSN: 0956.7135.

CLASSIFICAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE MEL DE MELATO DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Bentham) POR MEIO DO PERFIL ESPECTROFOTOMÉTRICO ASSOCIADO À ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

RESUMO

O mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), produzido predominantemente no Estado de Santa Catarina, Brasil, vem conquistando mercado, principalmente devido às suas características funcionais e sabor marcante. Dessa forma, é de extrema importância que métodos rápidos e de baixo custo sejam desenvolvidos para diferenciar essa classe distinta de mel. Apesar de não haverem registros de trabalhos que explorem o perfil espectrofotométrico, até a presente data, para diferenciação entre méis de melato e méis florais, a técnica parece ser uma alternativa viável, utilizada com sucesso na diferenciação e na detecção de fraudes de vários alimentos. Nesse contexto, o presente estudo avaliou o perfil espectrofotométrico de 30 amostras de mel de melato de bracatinga e 21 amostras de méis florais, coletadas em diferentes localidades da região serrana do Estado de Santa Catarina, Brasil, de três safras (2014, 2016 e 2018). A partir dos dados obtidos combinados com a análise de componentes principais foi possível distinguir claramente as duas classes de mel. Além disso, verificou-se que as amostras de mel de melato de bracatinga possuem um perfil espectrofotométrico semelhante, capaz de diferenciá-los dos méis florais, independente do ano em que foram produzidos. Conclui-se que o perfil espectrofotométrico, associado à análise quimiométrica é uma técnica promissora para a classificação e diferenciação de mel de melato de bracatinga, destacando-se pela rápida coleta de dados, sem uso de reagentes químicos e baixo custo operacional.

Palavras-chave: Análise de Componentes Principais, Autenticidade, Espectrofotometria UV-VIS.

1 INTRODUÇÃO

O mel de melato é um alimento altamente apreciado, principalmente nos países europeus, devido às suas propriedades nutricionais e sensoriais (ALDA-GARCILOPE *et al.*, 2012; KAYGUSUZ *et al.*, 2016). Existem vários tipos de mel de melato, sendo que o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth), produzido no Brasil, conquistou uma posição de destaque principalmente por apresentar aminoácidos essenciais (AZEVEDO *et al.*, 2017), considerável capacidade antioxidante *in vitro* (SERAGLIO *et al.*, 2017; BERGAMO *et al.*, 2018b) e elevados teores de minerais (BERGAMO *et al.*, 2018a) e compostos fenólicos bioacessíveis (SERAGLIO *et al.*, 2017;).

A produção de mel de melato de bracatinga ocorre a cada dois anos quando a árvore de bracatinga é infestada por insetos sugadores de plantas (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014). Esse fenômeno geralmente ocorre no período do outono e inverno, quando há escassez de recursos florais para obtenção de néctar. Toda essa particularidade limita sua produção e, além de outros fatores já descritos, agrega valor ao produto (BERGAMO *et al.*, 2018a, 2018b).

Devido ao crescente consumo deste tipo específico de mel, é importante que a sua qualidade seja garantida e que possíveis fraudes possam ser evitadas. Nesse sentido, diversas pesquisas têm sido focadas em técnicas, geralmente baseadas em parâmetros físicos, químicos ou reológicos, para diferenciar a origem botânica desses méis (AMIRY; ESMAILLI; ALIZADEH, 2017; OROIAN; ROPCIUC, 2017; OROIAN *et al.*, 2017; BERGAMO *et al.*, 2018a, 2018b).

Apesar de nunca ter sido utilizada na diferenciação de méis de melato e florais, até o presente momento, a análise do perfil espectrofotométrico foi utilizada com sucesso para a diferenciação e detecção de fraude em vários alimentos e bebidas, tais como vinhos (URBANO *et al.*, 2006), café (SOUTO *et al.*, 2010), azeite de oliva extra virgem (PIZARRO *et al.*, 2013), kiwi e “grapefruit” (SÂRBU *et al.*, 2012). O perfil espectrofotométrico encontra relevância juntamente com a análise quimiométrica, uma vez que pode indicar diferenças ou semelhanças entre as amostras, permitindo estabelecer um padrão específico para certos grupos de alimentos (CASTRO-PUYANA; HERRERO, 2013). A técnica baseia-se na identificação de um perfil, não sendo necessário identificar os picos ou compostos específicos (CASTRO-PUYANA; HERRERO, 2013). Além disso, é uma técnica recente cujas vantagens estão concentradas no preparo mínimo da

amostra, pouco ou nenhum uso de reagentes e baixo custo (SOUTO *et al.*, 2010).

Nesse contexto, o presente estudo buscou, pela primeira vez (até o momento), classificar e diferenciar méis de melato de bracatinga de méis florais, produzidos em uma mesma região por meio do perfil espectrofotométrico associado à análise quimiométrica.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras

Todas as amostras de méis de melato e florais avaliadas nesse estudo foram coletadas por apicultores e enviadas para o Laboratório de Química de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina na forma de favos, acondicionados em caixas isotérmicas. Esses favos foram drenados e previamente filtrados em laboratório para evitar possíveis contaminações entre as amostras. Após este processo, as amostras foram armazenadas em recipientes plásticos com tampa e congeladas à temperatura de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$. No momento da análise, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e homogeneizadas manualmente.

As amostras de méis de melato foram coletadas em três safras diferentes (2014, 2016 e 2018) de locais com extenso plantio de árvores de bracinga. Durante a coleta do mel, também foi observada a infestação de árvores por insetos sugadores de plantas, garantindo assim que essas amostras fossem oriundas de excreções desses insetos. De acordo com as declarações dos apicultores profissionais, a escassez ou nenhum outro tipo de recurso melífero foi também observado próximo às colmeias na época da colheita.

Tabela 5.1 – Descrição das amostras de mel de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham) produzidas em Santa Catarina.

Amostras de mel de melato de bracinga (<i>Mimosa scabrella</i> Bentham)					
Safra 2014		Safra 2016		Safra 2018	
Amostra	Local	Amostra	Local	Amostra	Local
H1, H2	Bocaina do Sul	H9, H10	Bom Retiro	H22, H23, H24, H25	Bom Retiro
H3, H4	Lages	H11, H12, H13	Bocaina do Sul	H26	Bocaina do Sul
H5, H6	Urubici	H14	Lages	H27, H28	Lages
H7, H8	Urupema	H15, H16	São Joaquim	H29	Urubici
		H17, H18	Urubici	H30	Urupema
		H19, H20, H21	Urupema		

H – Mel de melato de bracinga (*Mimosa scabrella* Bentham).

Fonte: A Autora.

Os méis florais foram coletados nas mesmas regiões e em regiões próximas à área de coleta do mel de melato de bracinga, no ano de 2016. A origem botânica de todas as amostras foi considerada de acordo com as declarações dos apicultores locais.

Tabela 5.2 – Descrição das amostras de méis de florais produzidas em Santa Catarina.

Amostras de méis de origem floral		
Safra 2016		
Amostra	Origem Botânica	Local
F1, F2, F3	Multifloral	Bom Retiro
F4	<i>Sida</i> sp.	Bom Retiro
F5	Multifloral	São Bonifácio
F6	<i>Citrus sinensis</i> (L.)	São Bonifácio
F7	<i>Mimosa scabrella</i> Bentham	Lages
F8, F9, F10	Multifloral	Lages
F11	<i>Myrcia multiflora</i>	São Joaquim
F12	<i>Malus domestica</i>	São Joaquim
F13, F14	Multifloral	São Joaquim
F15, F16, F17, F18	Multifloral	Urubici
F19	<i>Clethra scabra</i> Pers.	Urupema
F20	<i>Eucalyptus</i> sp.	Urupema
F21	<i>Sida</i> sp.	Urupema

F – Mel floral.

Fonte: A Autora.

2.1.1 Preparo das Amostras

O preparo das amostras consistiu na diluição em água ultrapura (sistema Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, EUA) na proporção de 1:4 (m:m – mel:água). A seguir, as amostras foram agitadas manualmente por 5 minutos e centrifugadas (Eppendorf AG, Alemanha) à 10.000 rpm por 10 min com o objetivo de remover sedimentos que pudessem interferir na análise. Todas as amostras foram analisadas em triplicata de preparo em placas de poliestireno contendo 96 micropoços. Em cada micropoço foi adicionada uma alíquota de 200 µL de amostra previamente diluída.

2.2 Perfil Espectrofotométrico

As análises foram realizadas em leitor de microplacas SpectraMax[®] Paradigm[®] (Califórnia, EUA) equipado com lâmpada de flash de xenônio e LEDs de alta potência acoplado a um detector de fotodiodo de silício com tubo fotomultiplicador. O instrumento foi controlado por um computador compatível com o equipamento, equipado com o software SoftMax[®] Pro GxP (Califórnia, EUA).

A leitura foi ajustada para o modo de absorbância e o comprimento de onda variou de 380 nm a 800 nm (região visível) com intervalo de 1 nm, gerando 420 variáveis. Os espectros foram adquiridos em temperatura fixa de 25 °C. O espectro do branco foi registrado com água ultrapura, o mesmo usado na diluição das amostras.

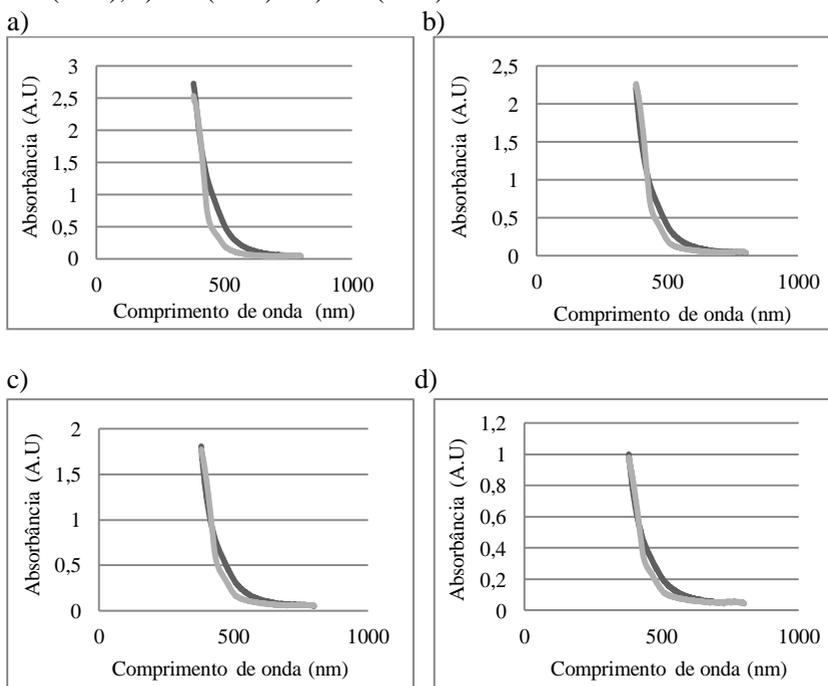
2.3 Análise Quimiométrica

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi utilizada para avaliar o perfil espectrofotométrico das amostras, buscando explicar e interpretar a interdependência dos dados. Nenhum pico ou composto foi identificado, apenas as absorbâncias foram adquiridas e registradas em cada comprimento de onda, que variou de 380 nm a 800 nm, com 1 nm de intervalo e utilizadas. O “*software*” Paleontological Statistics[®] (Past) versão 2.16 foi utilizado para realizar a análise quimiométrica.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para melhorar a saturação no espectro obtido, foram realizados testes de diluição da amostra (com água ultrapura). Assim, diluições de 80 % (4:1 - m:m - mel:água), 60 % (3:2 m:m), 40 % (2:3 m:m) e 20 % (1:4 m:m) foram avaliadas, a partir de uma amostra de mel de melato de bracatinga (H14) e uma amostra de mel floral (F10) coletadas na mesma região. Como é possível observar na Figura 5.1, a diluição de 20 % foi a que apresentou a menor saturação dentro do comprimento de onda avaliado. Portanto, essa diluição foi utilizada para todas as amostras no decorrer do experimento.

Figura 5.1 – Diluição das amostras de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) e méis florais (mel:água): a) 4:1 (m:m), b) 3:2 (m:m), c) 2:3 (m:m) e d) 1:4 (m:m).

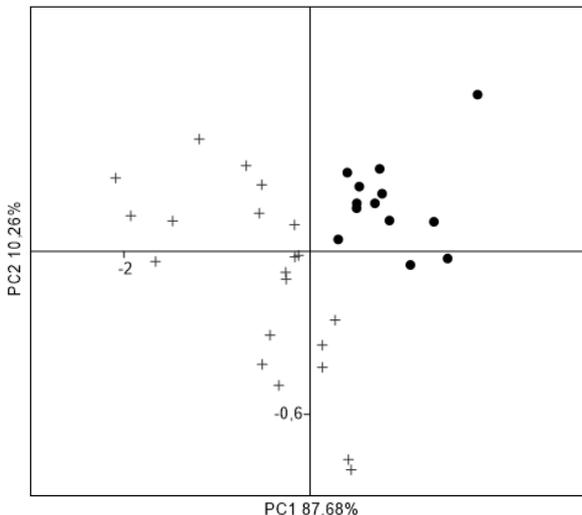


Legenda: ■ Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), ■ Mel floral.

Fonte: A Autora.

Na primeira etapa da análise dos dados, foram utilizados apenas os perfis espectrofotométricos obtidos a partir das amostras de mel de melato de bracatinga e florais oriundos da safra de 2016. Assim, apenas as amostras da mesma colheita e de diferentes origens botânicas foram confrontadas. A partir do perfil espectrométrico dessas amostras, 420 variáveis foram obtidas e avaliadas a partir da Análise de Componentes Principais (Figura 5.2).

Figura 5.2 – Análise de componentes principais para classificação de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) e méis florais (ambos referentes a safra de 2016) a partir de 420 variáveis: 380 nm a 800 nm.



Legenda: ● Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham).

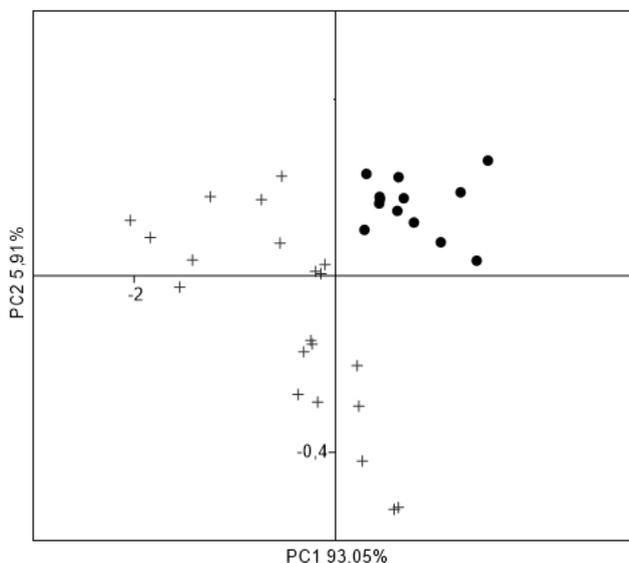
+ Mel Floral.

Fonte: A Autora.

A utilização do perfil espectrofotométrico associado à análise de componentes principais promoveu uma boa separação das amostras, o que possibilitou classificar e distinguir as duas classes de mel. Ainda, a Componente Principal 1 (PC1) explicou a maior percentagem de variação dos dados (87,68%), enquanto a Componente Principal 2 (PC2) explicou 10,26%, demonstrando confiabilidade para os resultados obtidos.

Embora a análise de componentes principais tenha apresentado separação satisfatória das amostras avaliadas, uma nova análise foi realizada com o objetivo de reduzir o número de variáveis. Um menor número de variáveis é vantajoso uma vez que reduziria o tempo de análise além de facilitar a coleta e tratamento dos dados. Assim, apenas as variáveis com correlação superior a 0,9 com PC1 foram utilizadas, o que corresponde às absorvâncias obtidas entre os comprimentos de onda 380 nm e 485 nm, resultado em 105 variáveis (Figura 5.3).

Figura 5.3 – Análise de Componentes Principais para classificação de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) e méis florais (ambos referentes a safra de 2016) a partir de 105 variáveis: de 380 nm a 485 nm.



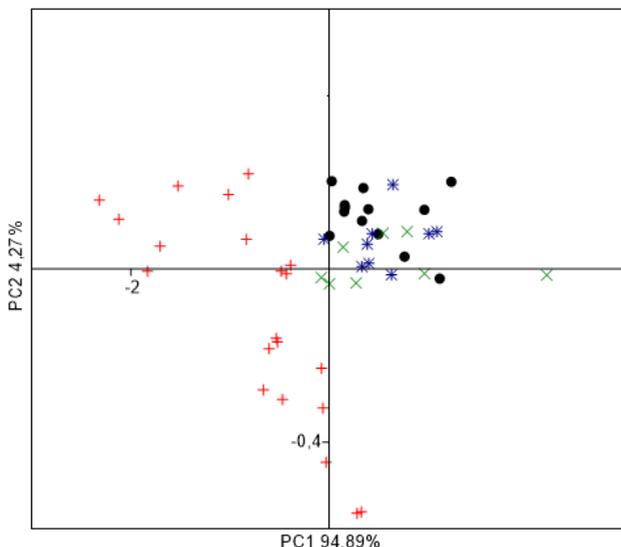
Legenda: ● Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham).
+ Mel Floral.

Fonte: A Autora.

Nesta nova análise de componentes principais (Figura 5.3) foi possível verificar que o uso de apenas 105 variáveis (leituras em comprimento de 380 nm a 485 nm) continuaram sendo suficientes para promover a diferenciação das amostras. Além disso, a PC1 foi responsável por explicar 93,05% da variabilidade dos dados, aumentando ainda mais a confiabilidade dos resultados obtidos.

Como foi possível obter a separação satisfatória das amostras da mesma colheita com o uso de 105 variáveis, apenas estas foram utilizadas para verificar uma possível separação das amostras de méis florais (safra de 2016) e de melato de bracatinga referentes às safras de 2014, 2016 e 2018. O objetivo desta nova análise foi verificar se amostras de mel de melato de bracatinga demonstrariam um perfil espectrofotométrico similar, independentemente do ano em que foram coletadas (Figura 5.4).

Figura 5.4 – Análise de Componentes Principais para classificação de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) (safras de 2014, 2016 e 2018) e méis florais (safra 2016) utilizando 105 variáveis correspondentes ao intervalo de 380 nm à 485 nm.



- × Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) (safra 2014);
- Mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) (safra 2016);
- * Mel de melato de bracatinga (safra 2018); + Mel floral (safra 2016).

A partir da Figura 5.4, foi possível verificar que as amostras de mel de melato de bracatinga e de méis florais foram bem diferenciadas na nova análise. As amostras de mel de melato demonstraram um perfil espectrofotométrico similar, independente do ano em que foram coletadas, resultando em um grande agrupamento. Ainda, a PC1 explicou uma maior porcentagem de variabilidade dos dados (94,89%).

Sendo assim, independentemente do ano em que foram coletadas, as amostras de mel analisadas parecem possuir perfis espectrofotométricos distintos, que se assemelham às suas características botânicas. Assim, o perfil espectrofotométrico associado à análise quimiométrica demonstrou potencialidade para diferenciar méis de origens botânicas distintas, apresentando como vantagens a rapidez, baixo custo operacional e mínima geração de resíduos.

4 CONCLUSÃO

O perfil espectrofotométrico associado à análise quimiométrica permitiu classificar e diferenciar méis de melato de bracatinga e florais de três safras distintas, uma vez que, independentemente do ano da colheita, as amostras de mel de melato de bracatinga demonstraram perfis espectrofotométricos semelhantes. Com o auxílio de tratamento estatístico, por meio de análise quimiométrica, a técnica de espectrofotometria demonstrou ser uma alternativa viável, rápida e de baixo custo operacional para classificação e diferenciação entre méis de melato de bracatinga e florais produzidos em uma mesma região.

REFERÊNCIAS

- ALDA-GARCILOPE, C.; GALLEGRO-PICÓ, A.; BRAVO-YAGÜE, J. C.; GARCINUÑO-MARTÍNEZ, R. M.; FERNÁNDEZ-HERNANDO, P. Characterization of Spanish honeys with protected designation of origin “Miel de Granada” according to their mineral content. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1785–1788, dez. 2012.
- AMIRY, S.; ESMAILI, M.; ALIZADEH, M. Classification of adulterated honeys by multivariate analysis. **Food Chemistry**, v. 224, p. 390–397, 2017.
- AZEVEDO, M. S.; SERAGLIO, S. K. T.; ROCHA, G.; BALDERAS, C. B.; PIOVEZAN, M.; GONZAGA, L. V.; FALKENBERG, D. de B.; FETT, R.; DE OLIVEIRA, M. A. L.; COSTA, A. C. O. Free amino acid determination by GC-MS combined with a chemometric approach for geographical classification of bracatinga honeydew honey (*Mimosa scabrella* Bentham). **Food Control**, v. 78, p. 383–392, ago. 2017.
- BERGAMO, G.; SERAGLIO, S. K. T.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Mineral profile as a potential parameter for verifying the authenticity of bracatinga honeydew honeys. **LWT**, v. 97, p. 390–395, 17 jul. 2018a.
- BERGAMO, G.; SERAGLIO, S. K. T.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Physicochemical characteristics of bracatinga honeydew honey and blossom honey produced in the state of Santa Catarina: An approach to honey differentiation. **Food Research International**, v. 116, p. 745–754, 8 set. 2018b.
- CASTRO-PUYANA, M.; HERRERO, M. Metabolomics approaches based on mass spectrometry for food safety, quality and traceability. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 52, p. 74–87, 2013.
- KAYGUSUZ, H.; TEZCAN, F.; BEDIA ERIM, F.; YILDIZ, O.; SAHIN, H.; CAN, Z.; KOLAYLI, S. Characterization of Anatolian honeys based on minerals, bioactive components and principal component analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 273–279, 2016.
- MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. **Bracatinga, mimosa scabrella bentham: cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis: Epagri, 2014.
- OROIAN, M.; ROPCIUC, S. Honey authentication based on physicochemical parameters and phenolic compounds. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 138, p. 148–156, 2017.
- OROIAN, M.; ROPCIUC, S.; PADURET, S.; SANDULEAC, E. T. Authentication of Romanian honeys based on physicochemical

properties, texture and chemometric. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 13, p. 4240–4250, 9 dez. 2017.

PIZARRO, C.; RODRÍGUEZ-TECEDOR, S.; PÉREZ-DEL-NOTARIO, N.; ESTEBAN-DÍEZ, I.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M. Classification of Spanish extra virgin olive oils by data fusion of visible spectroscopic fingerprints and chemical descriptors. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2, p. 915–922, 2013.

SÂRBU, C.; NAȘCU-BRICIU, R. D.; KOT-WASIK, A.; GORINSTEIN, S.; WASIK, A.; NAMIEŚNIK, J. Classification and fingerprinting of kiwi and pomelo fruits by multivariate analysis of chromatographic and spectroscopic data. **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 994–1002, 2012.

SERAGLIO, S. K. T.; VALESE, A. C.; DAGUER, H.; BERGAMO, G.; AZEVEDO, M. S.; NEHRING, P.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; COSTA, A. C. O. Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds, minerals, and antioxidant capacity of *Mimosa scabrella* Bentham honeydew honeys. **Food Research International**, v. 99, p. 670–678, 2017.

SOUTO, U. T. C. P.; PONTES, M. J. C.; SILVA, E. C.; GALVÃO, R. K. H.; ARAÚJO, M. C. U.; SANCHES, F. A. C.; CUNHA, F. A. S.; OLIVEIRA, M. S. R. UV-Vis spectrometric classification of coffees by SPA-LDA. **Food Chemistry**, v. 119, n. 1, p. 368–371, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse estudo foram apresentadas as principais características físico-químicas de méis de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) e de méis florais produzidos na região do planalto serrano de Santa Catarina. Foi observada uma acidez livre elevada em méis de melato, e, em geral, os méis avaliados adequam-se aos padrões de qualidade preconizados pela legislação vigente. Além disso, os méis de melato de bracatinga avaliados nesse estudo não continham manganês em sua composição, o que, possivelmente, pode ser um parâmetro para identificar sua autenticidade. Ainda, méis de melato de bracatinga apresentam características cromáticas e perfil espectrofotométrico peculiares, os quais permitem sua diferenciação de méis florais produzidos na mesma localização geográfica.

Foi verificado também que, especialmente, o teor de minerais majoritários e as características cromáticas podem ser utilizados para detecção de fraudes ocasionadas por adição de mel floral ao mel de melato (em concentrações superiores a 5% de mel floral).

Como perspectivas, sugere-se que trabalhos que contemplem um maior número amostras e de diferentes safras sejam realizados, a fim de validar os métodos aqui apresentados.

As estratégias desenvolvidas e apresentadas nesse estudo podem fornecer uma maneira viável para verificar a autenticidade e fraude de méis de melato de bracatinga, podendo ser utilizado por usinas de processamento e agências de inspeção como parte do processo inicial para a triagem de mel de melato de bracatinga.

ANEXO A

Principais características físico-químicas de méis de florais preconizadas pelas legislações Brasileira, União Européia, Mercosul e Codex.

		Mel Floral			
		Legislação Brasileira	União Européia	Mercosul	Codex
Maturidade	Açúcares Redutores	65g 100g ^{-1*}	60g 100g ^{-1*}	65g 100g ^{-1*}	60g 100g ^{-1*}
	Umidade	20g 100g ^{-1**}	20g 100g ^{-1**}	20g 100g ^{-1**}	20g 100g ^{-1**}
	Sacarose	6g 100g ^{-1**}	5g 100g ^{-1**}	5g 100g ^{-1**}	5g 100g ^{-1**}
Pureza	Sólidos Insolúveis	0,1g 100g ^{-1**}	0,1g 100g ^{-1**}	0,1g 100g ^{-1**}	0,1g 100g ^{-1**}
	Minerais - Cinzas	0,6 100g ^{-1**}	N.E	0,6 100g ^{-1**}	N.E
	Condutividade Elétrica	N.E	0,8 mS cm ^{-1**}	N.E	0,8 mS cm ^{-1**}
Deterioração	Acidez	50 mil equivalentes por kg ^{**}	50 mil equivalentes por kg ^{**}	40 mil equivalentes por kg ^{**}	50 mil equivalentes por kg ^{**}
	Atividade Diastásica	3 ^b - 8 na escala Gothe [*]	3 ^b - 8 na escala Schade [*]	3 ^b - 8 na escala Gothe [*]	3 ^b - 8 na escala Schade [*]
	Hidroximetilfurfural	60mg kg ^{**}	40mg kg ^{**a}	40mg kg ^{**}	40mg kg ^{**a}

* Requisito mínimo. ** Requisito máximo. N.E – Não estabelecido ^a Em regiões tropicais o valor máximo permitido é de 80mg kg⁻¹. ^b Se hidroximetilfurfural for menor que 15mg kg⁻¹.

Fonte: Brasil (2000), União Européia (2001), Mercosul (1994) e Codex Alimentarius (1981).

ANEXO B

Principais características físico-químicas de méis de melato preconizadas pelas legislações Brasileira, União Européia, Mercosul e Codex.

		Mel de Melato			
		Legislação Brasileira	União Européia	Mercosul	Codex
Maturidade	Açúcares Redutores	$60\text{g } 100\text{g}^{-1*}$	$45\text{g } 100\text{g}^{-1*}$	$60\text{g } 100\text{g}^{-1*}$	$45\text{g } 100\text{g}^{-1*}$
	Umidade	$20\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	$20\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	$20\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	$20\text{g } 100\text{g}^{-1**}$
	Sacarose	$15\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	$5\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	$10\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	$5\text{g } 100\text{g}^{-1**}$
Pureza	Sólidos Insolúveis	$0,1\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	$0,1\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	$0,1\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	$0,1\text{g } 100\text{g}^{-1**}$
	Minerais - Cinzas	$1,2\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	N.E	$1,0\text{g } 100\text{g}^{-1**}$	N.E
	Condutividade Elétrica	N.E	$0,8\text{ mS cm}^{-1*}$	N.E	$0,8\text{ mS cm}^{-1*}$
Deterioração	Acidez Livre	50 mil equivalentes por kg ^{**}	50 mil equivalentes por kg ^{**}	40 mil equivalentes por kg ^{**}	50 mil equivalentes por kg ^{**}
	Atividade Diastásica	$3^b - 8$ na escala Gothe [*]	$3^b - 8$ na escala Schade [*]	$3^b - 8$ na escala Gothe [*]	$3^b - 8$ na escala Schade [*]
	Hidroximetilfurfural	60mg kg^{**}	40mg kg^{**a}	40mg kg^{**}	40mg kg^{**a}

* Requisito mínimo. ** Requisito máximo. N.E – Não estabelecido ^a Em regiões tropicais o valor máximo permitido 80mg kg^{-1} . ^b Se hidroximetilfurfural for menor que 15mg kg^{-1} .

Fonte: Brasil (2000), União Européia (2001), Mercosul (1994) e Codex Alimentarius (1981).

