UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E NUTRICIONAL DO MEL ADICIONADO
COM PRÓPOLIS

ALEXANDRE BERA

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof. Dr. Ligia Bicudo de Almeida-Muradian

São Paulo
2004

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Bera, Alexandre

B482c Composição físico-química e nutricional do mel adicionado
com própolis / Alexandre Bera. -- São Paulo, 2004.
56p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e
Nutrição Experimental.

Orientador: Almeida-Muradian, Ligia Bicudo de

I. Mel : Ciência dos alimentos I. T. II. Almeida-
Muradian, Ligia Bicudo de, orientador.

641.38 CDD

ALEXANDRE BERA

COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E NUTRICIONAL DO MEL ADICIONADO
COM PRÓPOLIS

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Ligia Bicudo de Almeida-Muradian
orientador/presidente

Dr. Odair Zenebon
1º. examinador

Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho
2º. examinador

São Paulo, 04 de maio de 2004

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir a realização deste trabalho.

A Prof. Dra. Ligia Bicudo de Almeida-Muradian pela orientação, incentivo, confiança, amizade, interesse e pelo apoio concedidos em todos os momentos.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, em especial ao Departamento de Alimentos pela oportunidade oferecida para a realização deste trabalho.

Aos colegas do laboratório de análise de alimentos, Adriana, Carla, Cláudia, Elaine, Elma, Patrícia, Priscila, Renata e Selma pela amizade e companheirismo.

As técnicas do laboratório de análise de alimentos, Inês e Rosa pelas informações e apoio.

Ao CETAL S/C Ltda. pelo auxílio nas análises laboratoriais.

À minha família pelo incentivo e apoio: especialmente aos meus pais Alberto Bera e Marilene Pallotta Bera, sempre presentes em minha vida auxiliando no que for necessário.

À minha esposa Rejane Aparecida Lorençon Bera e meu filho Gustavo Lorençon Bera pelo amor e compreensão.

Aos meus avós João Pallotta (in memoriam) e Conceição Martins Pallotta (in memoriam) que sempre me incentivaram.

Ao CNPq, pela bolsa concedida

ABSTRACT:

The present work has, as its main objective, to determine the physico-chemical and nutritional composition of commercial samples of propolis added to honey from São Paulo State. Eleven honey-propolis samples were analyzed, according to the methods established by the Brazilian Law (Instrução Normativa n.11 de 20 de outubro de 2000) which recommends the same methods established by Codex Alimentarius Commission (CAC) and the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990). The results showed that the same methods used for pure honey quality control (moisture, HMF, reducing sugars, apparent sucrose, ash, free acidity, insoluble solids in water) except for the diastase activity which had to be adapted, can also be used for the honey-propolis quality control. The mineral analyses results showed that the samples were not a good source for iron, magnesium, zinc and calcium. Honey has its energy value enhanced by the addition of propolis if compared with pure honey. As five of the eleven samples analyzed did not have the nutritional values information on the labels as it is mandatory by the Brazilian Legislation, a more rigorous inspection and even a specific law should be established for the quality control of those products.

RESUMO

O presente estudo teve, como objetivo principal, a determinação da composição físico-química e nutricional de onze amostras de méis com própolis comercializados no Estado de São Paulo, de acordo com as metodologias analíticas da legislação brasileira vigente (Instrução Normativa nº11 de 20 de outubro de 2000), que segue os métodos preconizados pelos “Codex Alimentarius Commission” (CAC), 1990 e “Association of Official Analytical Chemists” (AOAC), 1990). Amostras de mel puro e de própolis foram usadas como referência. Os resultados mostraram que os mesmos métodos usados para o controle de qualidade do mel puro (umidade, HMF, açúcares redutores, sacarose aparente, cinzas, acidez livre, sólidos insolúveis em água) foram adequados para o controle de qualidade do mel com própolis, exceto pela análise de atividade diastásica, que precisou de uma adaptação metodológica. A análise de minerais demonstrou que essas amostras não são fontes de ferro, magnésio, zinco e cálcio. A própolis adicionada ao mel aumentou o seu valor energético comparado com o mel puro. Cinco das onze amostras analisadas não apresentaram, na sua rotulagem, os valores nutricionais como recomenda a legislação. É indicada a necessidade de uma fiscalização mais rigorosa, assim como uma legislação específica para o controle de qualidade destes produtos.

SUMÁRIO

	pág
1.INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3. OBJETIVOS.....	14
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4.1. MATERIAL.....	15
4.2. MÉTODOS ANÁLITICOS.....	17
4.2.1. Umidade e brix.....	17
4.2.2. Hidroximetilfurfural (HMF).....	17
4.2.3. Açúcares redutores e sacarose aparente.....	18
4.2.4. Minerais/cinzas.....	18
4.2.5. Acidez livre.....	18
4.2.6. Sólidos insolúveis.....	19
4.2.7. Atividade diastásica.....	19
4.2.8. Teste de Fiehe.....	20
4.2.9. Reação de Lugol.....	20
4.2.10. Reação de Lund.....	20
4.2.11. Determinação de gorduras totais.....	21
4.2.12. Determinação do nitrogênio total/proteínas.....	21
4.2.13. Análise de cor.....	21
4.2.14. Análise do teor alcoólico.....	22

4.2.15. Cálculo do valor energético.....	22
4.2.16. Minerais.....	22
4.2.17. Análise da rotulagem.....	23
5. TRATAMENTO DE RESÍDUOS QUÍMICOS.....	24
6. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	25
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
7.1. Resultados do mel puro e adicionado de própolis (2%).....	26
7.2. Resultados das amostras comerciais de mel com própolis.....	30
7.3. Resultados obtidos nas análises de minerais	37
7.4. Valor energético.....	39
7.5. Análise da rotulagem.....	41
8. CONCLUSÕES.....	44
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

LISTA DE TABELAS

	pág
TABELA 1. Descrição da concentração de própolis em méis comerciais	16
TABELA2. Resultados das análises físico-químicas das amostras de mel puro e mel com própolis.....	27
TABELA3. Resultados das análises físico-químicas nas amostras de mel com própolis.....	31
TABELA 4. Resultados das análises físico-químicas nas amostras de mel com própolis.....	33
TABELA 5. Resultados das análises físico-químicas das amostras de mel com própolis.....	36
TABELA 6: Resultados das análises dos minerais ($\mu\text{g/g}$) ferro, magnésio, zinco e cálcio nas amostras de mel, própolis e mel com própolis.....	38
TABELA 7: Valor energético calculado para as amostras de mel puro e méis com própolis, utilizando-se 100 g e a porção de 20 mL (1 colher).....	40
TABELA 8: Comparação entre os valores declarados e os obtidos para carboidratos, proteínas, gorduras totais valor calórico.....	42

1. INTRODUÇÃO

São comuns no mercado varejista, os exemplos de méis adicionados de outros produtos da apicultura, como própolis, pólen e geléia real, todos com a autorização do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Para o mel com própolis ainda não existe regulamento técnico de identidade e qualidade que determine quais os parâmetros analíticos necessários para avaliar a autenticidade.

Basicamente, o mel é uma mistura complexa de açúcares altamente concentrada. Sua composição química foi objeto das revisões bibliográficas realizadas por CAMPOS (1987) e SERRANO *et al.* (1994), que sugeriram que essa composição depende de diversos fatores, entre eles: espécie botânica, natureza do solo, raça de abelhas, estado fisiológico da colônia, estado de maturação do mel e condições climáticas. Além dos açúcares em solução, o mel contém ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas, acetilcolina, flavonóides, minerais e uma extensa variedade de compostos orgânicos que contribuem para sua cor, odor e sabor, e que até hoje ainda não são totalmente conhecidos. Todos esses compostos menores somados, representam, em massa, apenas uma pequena parcela do mel.

A mistura de açúcares do mel é composta principalmente por frutose e glicose que, juntas, representam 85 a 95% do conteúdo total de carboidratos. A frutose apresenta-se normalmente em maior quantidade que a glicose, havendo uma proporção média entre elas de 1,2:1. Além desses carboidratos, a sacarose, os dissacarídeos redutores e os oligossacarídeos maiores representam 1,5%, 6,5% e 1,5%, respectivamente. Outro composto presente no mel é o ácido

glucônico, responsável pela acidez do mel, cujo pH varia de 3,2 a 4,5 (3,9 em média). Além do ácido glucônico, outros ácidos carboxílicos contribuem em menor escala para a acidez total do mel (CRANE, 1975).

A produção de mel no Brasil, em 2000, foi em torno de 40.000 toneladas/ano e, apesar de estar aumentando, poderia ser dez vezes maior de acordo com MARCHINI (2000). Não existem estatísticas oficiais para produção e consumo de mel. Estima-se que o consumo brasileiro esteja em torno de 500 g de mel por indivíduo, por ano, sendo considerado baixo quando comparado ao de alguns países da Europa que chegam a consumir 1.500 g (VILCKAS, 2003).

Própolis é uma substância coletada, modificada e usada pelas abelhas e possui uma composição complexa, formada tipicamente de ceras, resinas, bálsamos e óleos essenciais de origem vegetal. O nome própolis é derivado do grego e significa “em defesa da cidade”, neste caso em defesa da colméia. As abelhas utilizam a própolis para vedar orifícios na colméia inibindo a ação de insetos predadores e microorganismos, também no preparo de lugares assépticos para a postura da abelha rainha e mumificação de insetos invasores e até pequenos animais (MARCUCCI, 1996; MARCUCCI & LEVY, 1998).

As propriedades biológicas da própolis são inúmeras, dentre as quais os efeitos terapêuticos relacionados principalmente, com os compostos fenólicos, onde se destacam os flavonóides, sendo encontrados ainda alguns ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos fenólicos, álcoois e cetonas. A composição química da própolis varia de região para região, sendo que a proporção das substâncias encontradas é dependente do local da coleta (MARCUCCI, 1995, MARKHAM, 1996; RODRÍGUEZ *et al.*, 1999).

A própolis tem sido utilizada como um “antibiótico natural” devido as suas propriedades antibacterianas (MARCUCCI, 1996; PARK *et al.*, 2000). Porém, o seu sabor característico provoca rejeição em muitos consumidores e para contornar esse obstáculo, foram colocadas no comércio algumas opções para o consumo da própolis, tais como a sua adição em méis (SATO & MIYATA, 2000).

A legislação atual sobre mel, para o Estado de São Paulo, é a Instrução Normativa n. 11, de 20 de outubro de 2000 (BRASIL, 2000) que não prevê a adição de outros componentes ao mel. A legislação brasileira sobre própolis pura é regida pela Instrução Normativa n. 3, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001a), a qual não prevê misturas. É necessário, portanto, o estabelecimento de um padrão de identidade e qualidade (PIQ) para o mel com própolis, assim como para outros méis compostos, uma vez que a legislação não contempla o PIQ e nem cita quais seriam os parâmetros analíticos recomendados para o controle de qualidade deste tipo de produto.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mel

O mel é um produto produzido como alimento pelas abelhas e consumido pelo homem desde a antigüidade. As abelhas e o mel sempre foram admirados e considerados como sagrados pelo homem. Muitos povos antigos consideravam o mel como o alimento dos deuses e o utilizavam em oferecimento à divindades como agradecimento, penitência ou reparação nos rituais religiosos (CRANE, 1987). Foi usado também para a conservação de múmias e frutas (TREVISAN *et al.*, 1981).

O interesse pelo mel durante muitos anos se manteve grande, principalmente devido às características adoçantes como o único produto natural com essa propriedade até 1900 quando foi gradualmente substituído pelo açúcar da cana (CRANE, 1975).

As abelhas da espécie *Apis mellifera* se desenvolveram no Velho Mundo e podiam ser encontradas em diversos abrigos naturais, como troncos ocos de árvores, frestas de rochas, buracos no chão e sempre produziram grandes quantidades de mel com o intuito armazenar o excesso para o consumo em um possível período de escassez (CRANE, 1987).

O mel é produzido a partir do néctar das flores, exsudato de plantas ou da excreção de insetos sugadores. Podem ser classificado em: monofloral, constituído do néctar de uma única espécie floral ou quando a maior predominância for de uma única espécie floral; polifloral, quando constituído do néctar de mais de uma espécie floral e extrafloral que não provem do néctar,

sendo produzido a partir de exsudato de plantas ou restos de frutas (ROSSI, 1999).

WHITE (1975) estudando 490 amostras de méis norte-americanos, encontrou uma composição média de 79,6% de açúcares e 17,2% de água, restando 3,2% para os demais componentes. As propriedades físico-químicas do mel dependem amplamente dos tipos de flores, condições climáticas presentes na região onde é produzido o mel (ABU-TARBOUSH, 1993).

No Estado de São Paulo são encontrados, com facilidade, três tipos de méis, principalmente o de flores silvestres, devido à vasta diversidade de espécies botânicas, que florescem o ano todo; os méis de flores de eucalipto (*Eucaliptus spp*), provenientes das grandes áreas de reflorestamento; e os méis de flores de laranjeira (*Citrus spp*), que possuem maior procura devido a suas características próprias obtidas a partir do néctar cítrico (ROSSI, 1999; KOMATSU *et al.*, 2002). Os principais açúcares presentes no néctar das flores são frutose, glicose e sacarose. Porém, sua concentração pode variar muito para cada espécie de planta (ANKLAM, 1998; MATEO e BOSH-REIG, 1997, 1998). Outros açúcares como a rafinose e melezitose foram encontrados em “honeydew”, uma substância adocicada secretada por algumas espécies de insetos sugadores de plantas (LEITE *et al.*, 2000).

A quantidade de mel produzida em uma colméia sempre despertou interesse dos mais diversos animais, desde pequenos insetos e até grandes mamíferos, como os ursos, que são atraídos pelo aroma exalado (CRANE, 1975). Também a textura, aparência, sabor e a doçura do mel, bem como suas propriedades medicinais, têm atraído milhares de consumidores (COSTA, *et al.*, 1999). A alta produtividade das abelhas fez com que um número grande de

pessoas se interessassem pela apicultura, tornando esta uma atividade rentável e gerando um aumento na produção apícola (MARCHINI, 2000).

A apicultura é praticada em quase todos os países para a produção de mel e é objeto de inúmeras pesquisas ao redor do mundo (PEREZ-ARQUILLUÉ, 1994).

O aumento na produção, conseqüentemente, fez com que a comercialização do mel também aumentasse e com ela surgissem problemas com adulteração, modificando as características próprias do produto (NOZAL *et al.*, 2000; CANO *et al.*, 1992).

Mesmo com o aumento da produção, o mel possui disponibilidade limitada e um preço relativamente alto, propiciando assim a sua adulteração com produtos de menor valor comercial, como glicose comercial, solução ou xarope de sacarose, melado e solução de sacarose invertida (ROSSI, 1999). Para isso foram criados métodos específicos para análise do mel pela “Association of Official Analytical Chemists” (AOAC) e “Codex Alimentarius Commission” (CAC), que pudessem estabelecer um controle da qualidade por intermédio de análises físico-químicas adequadas (BOGDANOV *et al.*, 1997).

Muitos destes métodos de análises, estabelecidos mundialmente, foram utilizados pela legislação brasileira e são utilizados não somente para constatar adulteração, mas também como indicador da qualidade do mel.

O teor de umidade do mel é normalmente analisado pela determinação do índice de refração, como o do refratômetro de Abbé, convertido, com o auxílio da tabela de Chataway, ao teor de umidade à 20°C, sendo o limite máximo 20%, de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2000)

O índice de refração depende do material sólido presente na amostra, e pode variar muito dependendo do tipo de mel. Desse modo, a tabela de conversão pode não ser apropriada para todos os tipos de méis (ISENGARD & SCHULTHEI, 2003). Além do próprio índice de refração, muitos fatores estão diretamente à umidade, como o sabor, a cor, o aroma, a viscosidade e densidade do mel, sendo este um dos parâmetros mais importantes para as análises físico-químicas, estabilidade e conservação do produto (CANO *et al.*, 2001; CAVIA *et al.*, 2002; ISENGARD & PRÄGER, 2003). O teor de umidade do mel não pode exceder 20% como meio de prevenção da fermentação causada pela ação de microorganismos que se desenvolvem facilmente em caso de umidade elevada (FARIA, 1993, ISENGARD *et al.*, 2001; CAVIA, 2002).

O hidroximetilfurfural (HMF) é um aldeído cíclico formado pela desidratação ácida dos monossacarídeos. O HMF pode ser um composto tóxico quando encontrado em quantidades muito elevadas, razão pela qual se faz necessária a sua determinação em méis. Este é também encontrado naturalmente em todos os produtos que contenham água com monossacarídeos em meio ácido. Pode também ser formado, pela reação de Maillard (TOSI *et al.* 2002; NOZAL *et al.*, 2001). No mel, o HMF é um indicador da qualidade que auxilia na identificação de um produto fresco quando apresenta baixas concentrações, ou que tenha sido aquecido, estocado em condições inadequadas ou adulterado com xarope invertido, quando existir em altas concentrações (WHITE, 1980; STRONG & DUARTE, 1985; VIÑAS *et al.*, 1992; COCO *et al.*, 1996, BATH & SING, 1999; NOZAL *et al.*, 2001). Para constatar a presença do HMF no mel pode-se utilizar de uma reação qualitativa, estabelecida nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985), ou seja,

o teste de Fiehe. Na quantificação de HMF é utilizado o método espectrofotométrico UV-Vis a 284 e 336 nm. A concentração máxima permitida pela legislação brasileira é de 60 mg de HMF por kg de mel (BRASIL, 2000).

Na Comunidade Européia, o limite para o HMF é de 40 mg/kg, porém alguns autores sugerem que esse limite deveria ser aumentado para 80 mg/kg por não se tratar de um problema sanitário e sim da qualidade (TERRAB *et al.*, 2002). Em algumas regiões de clima subtropical, devido a temperaturas elevadas, os valores de HMF sempre excedem o limite legal (NOZAL *et al.*, 2001).

Os açúcares constituem de 65 a 80% dos sólidos solúveis do mel e, dentre os principais, estão os monossacarídeos glicose e frutose, que são os mais abundantes (LEITE *et al.*, 2000). Dissacarídeos como sacarose, maltose, turanose e trealose são encontrados em menores concentrações, entre 3 e 10%, e os oligossacarídeos, tais como erlose, matriose e rafinose, estão presentes em concentrações muito pequenas: menos de 1% (CRANE, 1987; SWALLOW & LOW, 1990).

Os açúcares redutores são utilizados como parâmetros para diferenciar os tipos de méis de diferentes origens e também podem indicar a tendência do mel para a cristalização (MENDES *et al.*, 1998). A cristalização do mel é um processo indesejável porque afeta a sua viscosidade, diminuindo o interesse do consumidor pelo produto (CAVIA *et al.*, 2002; TOSI *et al.*, 2002). Para que ocorra a cristalização do mel a concentração de glicose deve estar acima de 30% (CRANE, 1987).

Açúcares não-redutores, como a sacarose, servem como parâmetros de pureza do mel, porém, quando detectada em grande quantidade pode

caracterizar adulteração, tanto na alimentação das abelhas, quanto na adição direta de sacarose no mel (MENDES *et al.*, 1998). O limite máximo tolerável no Brasil para sacarose aparente é de 5% para mel de flores e 10% para o mel de melato (BRASIL, 2000).

A determinação de cinzas no mel pode constatar irregularidades na produção como falta de higiene e o beneficiamento incorreto. De acordo com a legislação vigente, o máximo permitido de cinzas é de 0,6% para mel de flores e de 1,0% para o mel de melato (BRASIL, 2000).

A concentração dos minerais varia muito dependendo do tipo de mel, encontrando-se em média, 0,17% (LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 1999). Apesar da baixa concentração de minerais, o mel fornece minerais ao organismo no caso de ser utilizado como adoçante natural em substituição ao açúcar refinado (AZEREDO *et al.*, 1998).

Uma série de minerais está presente no mel (WHITE, 1975) e, atualmente, a determinação da concentração é realizada principalmente por espectrofotometria de absorção atômica e fotometria de chama. Os minerais encontrados em pequenas quantidades são: cálcio, magnésio, ferro, cobre, cádmio e zinco, nas formas de sulfato e cloreto (AZEREDO *et al.*, 1998.). A técnica de espectrometria de absorção atômica com chama é a mais utilizada nas análises de metais em alimentos, devido a boa eficiência analítica (LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 1999).

YILMAZ & YAVUZ (1999) determinaram em méis do sudeste de Anatólia (Turquia), magnésio, ferro, cobre, manganês, cobalto, zinco e níquel,

diretamente em solução de cinzas (dissolvidas em ácido clorídrico e posteriormente diluída com água destilada) pelo método de espectrometria de absorção atômica enquanto que sódio, potássio e cálcio foram determinados por fotometria de chama.

A determinação de minerais em méis vem sendo realizada não só para a obtenção do valor nutricional, como também para constatar a presença de metais tóxicos, como o cobre, chumbo, cádmio e zinco (SANNA *et al.*, 2000).

Segundo HAYDAK *et al.* (1975), nas quantidades consumidas de mel, os minerais não têm significado nutricional comparadas com as necessidades diárias, o mesmo aplicando-se em relação aos aminoácidos e vitaminas. A mesma observação foi referente às vitaminas relatada por SERRANO *et al.* (1994), principalmente nas amostras de méis das quais foram retirados os grãos de pólen. Entretanto, os mesmos autores citam que o consumo diário de 50 gramas de mel forneceria as exigências para as vitaminas B₂, B₆, K e ácido pantotênico.

O mel também possui atividade antimicrobiana contra *Staphilococcus aureus* e *Escherichia coli* e ainda, pode ser usado como indicador de poluição nas áreas em que as colméias são colocadas, quando este apresentar em sua composição quantidades elevadas de substâncias tóxicas, (CAROLI *et al.*, 1999).

A coloração do mel varia de acordo com a composição do néctar presente, minerais e concentração de nitrogênio que pode ser alterada pela ação do calor. Alguns estudos têm sido realizados no sentido de estabelecer relações entre coloração do mel, cinzas e conteúdo de minerais (BASTOS *et al.*, 1996). Méis claros, normalmente, têm sabores mais suaves e possuem maior valor

comercial quando comparados aos escuros (ANDRADE *et al.*, 1999; GONZALES *et al.*, 1999)

Os ácidos orgânicos contribuem para o odor e sabor do mel, e dependendo do grau de acidez, podem favorecer a proliferação de microorganismos, reduzindo sua qualidade (MATO *et al.*, 1998). O pH do mel é, em média, 3,9 e o ácido de maior mais predominância é o glicônico, produzido pela ação da enzima glicose-oxidase, pelas glândulas hipofaringeanas das abelhas. Outros ácidos encontrados no mel são: fórmico, acético, benzóico, butírico, cítrico, láctico, maléico, málico, oxálico e fenilacético (CRANE, 1987). De acordo com a legislação vigente deve ser realizada a análise da acidez livre, baseada na titulação potenciométrica; o máximo de acidez livre permitida no mel é de 40 miliequivalentes/Kg (BRASIL, 2000).

A determinação de sólidos insolúveis é um método para constatar adulteração e contaminação do mel por substâncias insolúveis em água. O teor máximo permitido de sólidos insolúveis em água no mel é de 0,1% para o mel centrifugado e de 0,5% para o prensado (BRASIL, 2000).

A atividade diastásica é um parâmetro de qualidade que indica o frescor do mel, podendo indicar também o superaquecimento ou problemas acarretados por um armazenamento prolongado ou inadequado deste produto (SANCHO *et al.*, 1992; BOGDANOV *et al.*, 1999). O mínimo de atividade diastásica permitido pela legislação brasileira é de 8 na escala de Gothe e 3, se o HMF não exceder 15 mg/Kg de mel (BRASIL, 2000).

As enzimas comumente encontradas nos méis são α -glicosidase (invertase), α -amilase e β -amilase (diastase), glicose-oxidase e, em menores concentrações, a catalase e a fosfatase (BARHATE *et al.*, 2003; VORLOVA &

CELECHOVSKA, 2002). As enzimas são muito importantes no processo de maturação do mel, principalmente quando realizada pela ação da invertase, produzida nas glândulas hipofaringeanas das abelhas (MORAES & TEIXEIRA, 1998).

O mel puro misturado com os demais produtos da colméia ou até mesmo de plantas medicinais, denominado mel composto, tem sido amplamente comercializado (COSTA & PEREIRA, 2002) e, por isso, aumenta a necessidade de uma garantia de segurança ao consumidor quanto aos benefícios e eliminação de riscos que possam ser trazidos pelo produto. A concentração da própolis adicionada ao mel, pela maioria dos apicultores e entrepostos é a de 2% de um extrato contendo 30 gramas de própolis para 100mL de álcool etílico 70° GL (MARCUCCI & LEVY, 1998).

2.2 Própolis

A própolis é uma substância resinosa, coletada pelas abelhas a partir de secreções ou exudatos de várias partes das diferentes espécies de plantas (MARCUCCI, 1996; NAGAI *et al.*, 2003), como folhas, fendas e cascas dos troncos de árvores. Sua composição média é 50% de resina (flavonóides e ácidos fenólicos), 30% de ceras, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% de outros componentes orgânicos (PIETTA *et al.*, 2002). A composição da própolis sempre despertou interesse, pois é uma substância de origem natural e pode ser usada na medicina popular e até na indústria química (MARCUCCI, 1995). A coloração da própolis pode variar de acordo com a sua origem

possuindo tonalidades desde o marrom escuro passando por esverdeada, até a um marrom avermelhado. Possui também um odor característico (MARCUCCI & LEVY, 1998; PARK *et al.*, 2000). Sua constituição exata depende da origem da planta (MARCUCCI, 1995; MARKHAM *et al.*, 1996).

A própolis não é utilizada como alimento pela abelha e sim como vedante da colméia e como antibiótico natural. Para os humanos, a própolis tem sido procurada devido as suas propriedades biológicas e terapêuticas (MARCUCCI, 1996; BANSKOTA *et al.*, 2001).

No Japão, a própolis vem sendo usada como “health food” (alimento funcional) e os japoneses acreditam que ela possa curar varias doenças, como alguns tipos de inflamação, doenças cardíacas, diabetes e câncer. Muitas características biológicas da própolis têm sido estudadas e com resultados positivos como, atividade antioxidante, anti-cancerígena (anti-tumoral), antimicrobiana, antiinflamatória e antibiótica (PARK *et al.*, 1998; NAGAI *et al.*, 2001; BANKOVA *et al.*, 2000).

3. OBJETIVO

O objetivo principal do presente trabalho foi a caracterização físico-química, química e nutricional do mel adicionado de própolis por intermédio dos parâmetros previstos pela legislação brasileira para o controle de qualidade do mel puro.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

As amostras de mel e de própolis foram obtidas diretamente de um apiário de Sorocaba, São Paulo. Obteve-se o extrato alcoólico de própolis 30%, (Onde 30 g de própolis bruta foi adicionada em 100 mL de álcool etílico 70° GL, seguida de uma leve maceração e após um repouso de 90 dias, a solução foi filtrada) que foi adicionado na proporção de 2% no mel puro, seguindo a técnica utilizada pelas empresas comerciais (amostra 1). Amostras de mel com própolis foram adquiridas comercialmente conforme descrito na Tabela 1 (amostras 2 a 12).

Tabela 1. Descrição da concentração de própolis em méis comerciais

Amostra	%própolis no mel
2	2%
3	2%
4	2%
5	2%
6	5%
7	5%
8	Não declarado
9	2%
10	Não declarado
11	Não declarado
12	Não declarado

4.2 Métodos analíticos

4.2.1 Umidade e brix

O método utilizado foi o refratométrico, preconizado pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) e pela AOAC (1990 - item 969.38B) para a análise de umidade no mel. Empregou-se o refratômetro de Abbé convertendo-se para a umidade pela tabela de Chataway, com correção para 20°C (VILHENA & ALMEIDA-MURADIAN, 1999) .

4.2.2 Hidroximetilfurfural (HMF)

Este método determina a concentração do 5-hidroximetil-furano-2-carbaldeído (HMF) por espectrometria, no comprimento de onda 284nm. Para evitar interferência com outras substâncias, é feita previamente uma clarificação da solução de mel com bissulfito de sódio a 0,20%. O conteúdo de HMF é calculado, após a subtração da absorbância de fundo a 336 nm, conforme a legislação brasileira (BRASIL, 2000) e AOAC (1990 - item 980.23).

4.2.3 Açúcares redutores e sacarose aparente

Os açúcares redutores e sacarose aparente foram determinados conforme indicado na legislação brasileira (BRASIL, 2000), O método utiliza a titulometria com reagente de Fehling conforme o “Codex Alimentarius” (CAC -1989 - item 7.1 e 7.2) e BOGDANOV et. al. (1997).

4.2.4 Minerais/cinzas

Utilizou-se o método gravimétrico para determinação de cinzas, com incineração em mufla a 550°C (BRASIL, 2000) e (CAC, 1989 - item 7.5).

4.2.5 Acidez livre

A acidez livre do mel é o conteúdo de todos os ácidos livres, expressos em mEq/Kg (miliequivalentes/Kilogramas de mel) (BOGDANOV et, al., 1997). O método baseia-se na titulação potenciométrica de uma solução de 10 g de mel em 75 mL de água livre de CO₂ com solução de hidróxido de sódio (BRASIL, 2000) e (AOAC, 1990 - item 962.19).

4.2.6 Sólidos insolúveis

Foi aplicado o método gravimétrico para a determinação dos sólidos insolúveis, onde o mel é diluído com água destilada a 80°C e filtrado em cadinhos porosos, conforme preconizado pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) e CAC (1989 - item 7.4).

4.2.7 Atividade diastásica

A determinação da atividade diastásica foi baseada no método de Schade modificado por White e Hadorn, onde a coloração azul desenvolvida pela reação de uma solução padrão de amido com solução de iodo varia de intensidade em função da concentração da enzima diastase contida na amostra de mel, em condições padrões estabelecidas. A diminuição na intensidade da coloração é medida em intervalos de 5 minutos. Com essa medida é feita uma plotagem da absorbância contra o tempo e, pela equação de regressão, é determinado o tempo requerido para alcançar o fator de absorbância de 0,235. O número de diastase (DN) é calculado dividindo 300 pelo tempo encontrado. A unidade de atividade diastásica, também conhecida com unidade de Gothe, é definida como o volume (mL) de solução de amido a 1% hidrolizada pela enzima presente em 1g de mel por 1 hora a 40°C. (BRASIL, 2000) e (CAC, 1989 - item 7.7)

Foram realizadas ainda outras determinações como as reações de Fiehe Lund e Lugol que constava na Portaria SIPA n. 006 (BRASIL, 1985).

4.2.8 Teste de fiehe

O teste de Fiehe baseia-se na detecção qualitativa do hidróxidometilfurfural (HMF) resultante da desidratação da frutose, obtida por hidrólise ácida da sacarose. Este derivado do furfural reage com a resorcina resultando em coloração que varia do rosa ao vermelho. Considera-se o teste positivo quando a coloração é avermelhada (IAL,1985).

4.2.9 Reação de lugol

O iodo e o iodeto de potássio reagem na presença de glicose, resultando uma solução de coloração, de vermelho-violeta a azul. A intensidade de cor depende da quantidade das dextrinas presentes na glicose. Considera-se a reação positiva quando a coloração é violeta ou azul (IAL,1985).

4.2.10 Reação de lund

Esta reação baseia-se na precipitação de proteínas naturais do mel pelo ácido tânico, a leitura é feita após 24 horas, observando-se o precipitado no fundo da proveta. A reação é considerada positiva, indicando a presença de mel puro quando o precipitado variar de 0,6 a 3,0 mL no fundo da proveta (IAL,1985).

Outras análises, descritas a seguir, foram realizadas, e não constam da legislação do mel, porém são necessárias para a rotulagem nutricional (BRASIL,

2001c).

4.2.11 Determinação de extrato etéreo (gorduras totais)

A determinação de extrato etéreo foi realizada por gravimetria utilizando-se extrator intermitente de Soxhlet e éter etílico como solvente (IAL, 1985).

4.2.12 Determinação do nitrogênio total / proteínas

O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método Micro-Kjeldahl, utilizando-se o fator 6,25 para transformação deste em proteínas (AOAC, 1990).

4.2.13 Análise de cor

A análise de cor do mel foi realizada por colorimetria utilizando-se o “Comparador 2000 – Lovibond”. Neste método o resultado é obtido diretamente no aparelho por comparação da cor da amostra com a dos padrões, segundo a escala Pfund, em mm (LANARA, 1981).

4.2.14 Análise do teor alcoólico

A determinação da graduação alcoólica em graus Gay-Lussac (°GL) foi realizada no ebuliômetro (modelo 3300-3, marca Leonardo), onde uma solução de mel com própolis é adicionada e a leitura é feita no termômetro acoplado ao aparelho.

4.2.15 Cálculo do valor energético

O valor energético (energia total metabolizável), foi calculado a partir da energia procedente dos nutrientes, considerando os fatores de conversão de Atwater segundo recomendação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP (USP, 2001):

$$\text{kcal} = (4 \times \text{g proteína}) + [(4 \times \text{g carboidratos (carboidratos totais - fibra alimentar)}) + (9 \times \text{g lipídios}) + (7 \times \text{g etanol})].$$

4.2.16 Minerais

Para a determinação dos minerais cálcio, magnésio, zinco e ferro foi utilizado o método de espectrometria de absorção atômica com chama nos comprimentos de onda 422.7, 285.2 e 213.9 conforme o trabalho de LÓPEZ-GARCÍA et. al. (1999). Os minerais foram quantificados após abertura das amostras com $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ e leitura em espectrômetro de absorção atômica marca HITACHI Z-5000. A correção da radiação de fundo foi feita por efeito Zeeman, sob a cuba de amostra (AOAC,1990) .

4.2.17 Análise da rotulagem

Os rótulos das amostras comerciais foram analisados de acordo com as Resoluções nº. 39 e 40 de 21 de março de 2001 que trata da rotulagem nutricional obrigatória para alimentos (BRASIL, 2001c, 2001d).

5. TRATAMENTO DE RESÍDUOS QUÍMICOS

Os resíduos químicos gerados foram encaminhados para serem incinerados, junto ao programa de tratamento de resíduos químicos da FCF/USP (Comissão de Descartes Laboratoriais).

6. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

Foi realizada a análise estatística utilizando-se o pacote estatístico STATISTICA for Windows [Statsoft, Inc. (1995), Tulsa, USA], seguindo os procedimentos descritos por COSTA NETO, (1977) e LAPPONI, (1997).

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Mel puro e adicionado de própolis a 2%

Os resultados obtidos das análises físico-químicas para amostra de mel puro e mel com própolis (preparada no Laboratório) estão apresentados na Tabela 2, assim como os parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira do mel puro (BRASIL, 2000)

Tabela 2. Resultados das análises físico-químicas das amostras de mel puro e com própolis (amostra 1)

Análise	Legislação Brasileira sobre o mel	Mel*	Mel + Própolis 2%*
Umidade (%)	Max 20	16,53 ^a ± 0,12 (0,73)	18,33 ^a ± 0,23 (0,00)
Hidroximetilfurfural (HMF – mg/Kg)	Max 60	32,71 ^a ± 3,27 (10)	47,43 ^b ± 1,68 (3,54)
Açúcares redutores (%)	Min 65	71,83 ^a ± 0,81 (1,13)	71,29 ^a ± 0,41 (0,57)
Sacarose aparente (%)	Max 10	1,44 ^a ± 0,02 (1,39)	1,45 ^a ± 0,01 (0,69)
Cinzas (%)	Max 1	0,20 ^a ± 0,012 (6,05)	0,20 ^a ± 0,007 (3,5)
Acidez livre (mEq/Kg)	40	33,00 ^a ± 0,87 (2,64)	35,00 ^a ± 1,5 (4,28)
Sólidos insolúveis (%)	Max 0,1	0,017 ^a ± 0,002 (11,76)	0,150 ^b ± 0,016 (10,67)
Atividade diastásica (mg/Kg)	Mínimo de 8 (HMF > 15)	8,03 ^a ± 0,52 (6,77)	1,78 ^b ± 0,01 (0,56)
Proteínas (%)	-	0,22 ^a ± 0,02 (9,09)	0,55 ^b ± 0,038 (6,91)
Gorduras totais(%)	-	0,41 ^a ± 0,03 (8,57)	0,41 ^a ± 0,01 (2,44)
Fiehe	-	Negativo	Negativo
Lugol	-	Negativo	Negativo
Lund (vol. Precipitado)	-	1,5 mL ^a	1,5 mL ^a
Cor (Pfund) mm	-	Âmbar 83-114 ^a	Âmbar 83-114 ^a

* = média ± desvio padrão, () = coeficiente de variação, n = 3

Valores com letras iguais não possuem diferenças significativas a nível 5%

Os resultados obtidos para as amostras de mel puro estão dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira de mel (BRASIL, 2000). No caso das amostras de mel com própolis, não existe legislação específica para efetuar a comparação de dados. As análises qualitativas Fiehe, Lugol e Lund,

para mel puro sugerem que se trata realmente de mel, e que o mesmo não se encontra adulterado com açúcar ou glicose comercial.

O teor de umidade do mel é um dos parâmetros mais importantes para manter a qualidade e a segurança do produto devendo permanecer inferior a 20% no mel puro. O valor médio da amostra de mel puro (16,53%), após a adição com 2% de própolis passou para 18,33%, acarretando um aumento não significativo de 1,8%, no teor de umidade. No trabalho realizado por COSTA & PEREIRA (2002), houve um aumento gradativo conforme a porcentagem de própolis adicionada ao mel; com adições de própolis em concentrações de 5%, 10%, 15% e 20% em mel contendo 19,1% de umidade os valores para este parâmetro analítico foram, respectivamente 20,6%, 21,7%, 23,6% e 25%.

Houve um aumento significativo na concentração média do HMF, após a adição da própolis, passando de 32,71 mg/Kg para 47,43 mg/Kg respectivamente. Mesmo com esse aumento na concentração de HMF o mel com própolis se manteve abaixo do limite 60 mg/Kg, permitido pela legislação do mel (BRASIL, 2000).

A concentração dos açúcares redutores passou de 71,83% para 71,28% com a adição de própolis, sofrendo uma redução não significativa. E também a concentração da sacarose aparente, manteve praticamente a mesma média passando de 1,44% no o mel puro para 1,45% no mel com própolis.

A adição de própolis no mel não aumentou a quantidade de cinzas no produto mantendo a mesma média (0,20%), indicando que o beneficiamento do produto foi realizada corretamente, tratando-se de um mel isento de impurezas (NANDA *et al.*, 2003)

Em relação à acidez livre que no mel puro, foi de 33,00 mEq/kg com a adição da própolis passou para 35,00 mEq/kg, também apresentando um aumento não significativo. Estes valores indicam que as amostras estão livres de fermentação, estando abaixo do limite máximo que é de 40 mEq/Kg de mel (MENDES *et al.*, 1998).

A porcentagem de sólidos insolúveis em água encontrada no mel com própolis foi de 0,150%, evidenciando um aumento significativo em relação teor no mel (0,017%), ultrapassando em 50% o limite permitido pela legislação do mel, que é de no máximo 0,1%. A quantidade de sólidos insolúveis também é um parâmetro que auxilia na avaliação da sujidade do mel (GOMEZ *et al.*, 1993, BRASIL, 2000).

A atividade diastásica apresentada para o mel puro teve uma média de 8,03 DN e com a adição de própolis este valor caiu para 1,78 DN. O valor obtido para mel puro está de acordo com o permitido pela legislação brasileira, porém com a adição da própolis este valor ficou muito abaixo do limite permitido para o mel puro, que é de 8 DN. A diminuição do número diastásico no mel com própolis possivelmente ocorre devido alguma propriedade, que inibe a ação enzimática, visto que se trata do mesmo mel somente adicionado de própolis.

O conteúdo de proteína encontrada no mel normalmente é menor que 0,5% (ANKLAM, 1998), embora a quantidade de proteína encontrada na amostra de mel puro, tenha sido pequena 0,22%, com a adição de própolis 2% passou para 0,55%, possivelmente pela proteína presente no extrato alcoólico de própolis (SANTOS *et al.*, 2003) encontraram 19,76% de proteína bruta no resíduo de própolis que continha 26,76% de extrato etéreo.

A porcentagem de extrato etéreo (gorduras totais) não foi alterada, mantendo a mesma média.

Em relação aos testes qualitativos, foram aplicados para constatação que o produto em questão tratava-se realmente de mel. Nos testes Fiehe e Lugol apresentaram resultado negativo, na prova de Lund o volume do precipitado foi de 1,5 mL em média, Todas as amostras apresentaram resultados esperados para mel.

Com adição de própolis a cor do mel não foi alterada mantendo o mesmo índice na escala Pfund entre 83 mm e 114 mm relativa a coloração âmbar.

7.2 Amostras comerciais de mel com própolis

Os resultados obtidos das análises físico-químicas para as onze amostras comerciais de mel com própolis estão apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5.

Tabela 3. Resultados das análises físico-químicas nas amostras de mel com própolis

Amostra	Umidade %	HMF mg/Kg	Açúcares Redutores %	Sacarose Aparente %
2	17,8 ±0,0	49,20 ±2,83 (5,75)	75,62±0,60 (0,79)	10,22 ±0,70 (6,85)
3	17,8 ±0,0	54,73 ±3,55 (6,49)	74,59±0,78 (1,05)	2,46 ±0,27 (10,98)
4	18,2 ±0,0	8,89 ±0,71 (7,99)	71,84±1,02 (1,42)	2,28 ±0,72 (31,58)
5	18,6 ±0,0	65,56 ±5,12 (7,81)	70,32±0,96 (1,37)	3,32 ±0,49 (14,76)
6	18,2 ±0,0	22,63 ±1,11 (4,91)	72,71±1,03 (1,42)	1,64 ±0,26 (15,85)
7	18,6 ±0,0	75,64 ±7,35 (9,72)	69,11±0,20 0,29	0,94 ±0,48 (51,06)
8	18,2 ±0,0	29,19 ±1,79 (6,13)	71,27±0,84 (1,18)	4,61 ±0,0 (0,00)
9	20,2 ±0,0	34,40 ±3,15 (9,16)	72,82±0,77 (1,06)	3,03 ±0,50 (16,50)
10	20,6 ±0,0	26,03 ±0,89 (3,42)	72,25±0,35 (0,48)	2,96 ±0,02 (0,68)
11	20,6 ±0,0	43,21 ±2,38 (5,51)	69,43±0,45 (0,65)	2,75 ±0,03 (1,09)
12	18,6 ±0,0	24,33 ±2,48 (10,19)	79,27±0,62 (0,78)	2,99 ±0,60 (20,07)
Total	18,85±1,08	39,44 ±20,22	72,67 ±2,97	3,38 ±2,45

Media (n=3) ± Desvio padrão (CV)= Coeficiente de variação

Para a umidade, com exceção das amostras nº. 9 (20,2%), 10 e 11 (20,6%), todas as outras amostras permaneceram com valores abaixo do limite estabelecido pela legislação do mel puro, que é 20%. De acordo com ISENGARD & SCHULTHEI (2003) os limites seguros para a não fermentação do

mel são ainda maiores: 21% a 23% de umidade dependendo da origem do néctar.

A concentração de HMF mostrou valores muito variáveis a partir de um mínimo de 8,89 mg de HMF por Kg de mel com própolis obtido na amostra nº. 4, até um máximo de 75,64 mg/Kg, na amostra nº. 7. De acordo com a legislação do mel puro, as amostras nº. 5 (65,56 mg/kg) e 7 (75,64mg/Kg) estariam acima do limite permitido de 60 mg de HMF/Kg de mel puro.

De acordo com a legislação brasileira, a porcentagem mínima de açúcares redutores no mel de flores é de 65%, e os valores encontrados, neste trabalho, foram muito variáveis. A amostra nº. 7 apresentou a menor concentração entre as amostras (69,11%) de açúcares redutores e a maior concentração foi encontrada na amostra 12 (79,27%).

O limite máximo permitido para a sacarose aparente pela legislação do mel é de 10 % (mel de melato ou multifloral) e 5 % para monoflorais. A amostra nº. 2 estaria com o valor acima do permitido para a legislação do mel puro (10,22%). Todas as outras amostras apresentaram concentrações de sacarose inferior a 5%.

Tabela 4. Resultados das análises físico-químicas nas amostras de mel com própolis

Amostra	Cinzas %	Acidez Livre mEq/Kg	Sólidos Insolúveis %	Atividade Diastásica DN
2	0,2669 ±0,007 (2,62)	22,13 ±0,50 (2,26)	0,269 ±0,083 (30,86)	2,87 ±0,18 (6,27)
3	0,2748 ±0,02 (7,28)	23,47 ±0,90 (3,83)	0,022 ±0,002 (9,09)	3,83 ±0,03 (0,78)
4	0,2615 ±0,018 (6,88)	19,65 ±0,40 (2,04)	0,024 ±0,003 (12,50)	7,28 ±0,10 (1,37)
5	0,4640 ±0,049 (10,56)	22,92 ±0,01 (0,04)	0,083 ±0,001 (1,20)	7,52 ±0,17 (2,26)
6	0,4095 ±0,033 (8,06)	20,5 6 ±0,30 (1,46)	0,035 ±0,001 (2,86)	2,70 ±0,26 (9,63)
7	0,1000 ±0,009 (9,47)	20,45 ±0,80 (3,91)	0,130 ±0,004 (3,08)	1,90 ±0,70 (36,84)
8	0,2289 ±0,012 (5,24)	19,97 ±0,07 (0,35)	0,040 ±0,002 (5,00)	5,75 ±0,07 (1,22)
9	0,2409 ±0,004 (1,66)	24,33 ±0,70 (2,88)	0,685 ±0,004 (0,58)	2,64 ±0,07 (2,65)
10	0,3630 ±0,053 (14,60)	28,97 ±0,70 (2,42)	0,014 ±0,002 (14,29)	7,46 ±0,04 (0,54)
11	0,3483 ±0,023 (6,60)	34,33 ±0,29 (0,84)	0,033 ±0,002 (6,06)	2,41 ±0,12 (4,98)
12	0,357 ±0,069 (19,33)	27,16 ±0,27 (0,99)	0,170 ±0,022 (12,94)	2,08 ±0,36 (17,31)
Total	0,3009 ±0,101	24,62 ±0,002	0,083 ±0,083	4,22 ±2,3

Media (n=3) ± Desvio padrão DN = Número de diastase

Os teores de cinzas em todas as amostras estão de acordo com a legislação para mel puro, sendo que o limite máximo permitido é de 0,6% para méis de flores e as concentrações variaram de 0,100% à 0,4640% nas amostras

nº. 7 e 5, respectivamente. Esses valores indicam que as amostras de mel com própolis estavam isentas de impurezas ou seja foram beneficiadas de maneira adequada e com pouca probabilidade de adulteração com melaço (MENDES *et al.*, 1998).

Em relação a acidez livre, todos os valores ficaram abaixo do limite permitido pela legislação do mel puro que é de 40 mEq/ Kg de mel. A amostra nº. 4 apresentou 19,65 mEq/ Kg que foi o valor mais baixo, sendo 34,33 mEq/ Kg a maior acidez livre encontrada na amostra nº. 11. Méis com acidez elevada acima de 40 mEq/Kg de mel, possuem indícios de fermentação (MENDES, *et al.*, 1998). No caso das amostras de mel com própolis analisadas, todas estavam isentas de fermentações indesejáveis.

Os sólidos insolúveis em água encontradas no de mel puro não devem ultrapassar a 0,1% (BRASIL, 2000), no entanto foram encontradas quatro amostras acima desse valor: as amostras nº. 2 (0,269%), 7 (0,130%), 9 (0,685 %) e 12 (0,170%). Na amostra nº. 9 este resultado provavelmente está relacionado a adição da própolis em pó que possui grande concentração de substâncias insolúveis em água (MARCUCCI & LEVI, 1998), as demais amostras mostraram valores abaixo do limite estipulado pela legislação do mel (tabela 4).

Na determinação da atividade diastásica foi necessário aumentar o tempo do intervalo de leitura de 5 minutos que normalmente utiliza-se nas amostras de mel puro para 15 minutos para as amostras de mel com própolis, devido a menor velocidade de reação que o mel com própolis apresentou nos ensaios preliminares. Os valores médios obtidos para atividade diastásica tiveram uma variação grande desde 1,90 DN na amostra nº. 7 até 7,52 DN na amostra nº. 5,

com esses resultados todas as amostras estariam fora do limite mínimo permitido pela legislação brasileira do mel puro onde o número de diastase é 8 quando o HMF for superior a 15 mg/Kg de mel. Esses resultados foram concordantes com os obtidos na tabela 2 que apresentou atividade diastásica do mel puro de 8,03 DN e de 1,78 DN quando foi adicionada de própolis. As amostras n^{os}. 6 e 7 que continham maior concentração de própolis (5%) apresentaram menor valor de diastase 2,70DN e 1,90DN respectivamente, a amostra n^o. 9 que declarou adição de 2% de própolis em extrato alcoólico e própolis bruta, seu valor foi de 2,64DN e a amostra n^o. 12 que possui 2,08 DN, porém não declarou a quantidade de própolis adicionada ao mel. Esses valores indicam, que a própolis diminui o número de diastase do mel, sendo provável que essa diminuição do número de diastase seja causada por uma eventual diferença da quantidade e/ou concentração da própolis adicionada no mel, visto que nas amostras de mel puro citadas na literatura apresentam valores adequados a legislação brasileira do mel como no caso de BONVEHÍ & COLL (1995), ANDRADE *et al.* (1999) e PRZYBYLOWSKI & WILEZYNSKA (2001) que obtiveram uma média de 17,60DN; 25,20DN e 14,08DN respectivamente.

Tabela 5. Resultados das análises físico-químicas das amostras de mel com própolis

Amostra	Brix %	Proteínas %	Extrato etéreo	Lund	Fiehe	Lugol
2	80,0 ±0,0	0,6536 ±0,13	0,32 ±0,03	2,0 ±0,0	Neg	Neg
3	79,7 ±0,0	0,6044 ±0,11	0,23 ±0,03	1,2 ±0,3	Neg	Neg
4	80,2 ±0,0	0,3379 ±0,03	0,07 ±0,01	1,0 ±0,0	Neg	Neg
5	79,7 ±0,0	0,3571 ±0,02	0,43 ±0,06	1,3 ±0,0	Neg	Neg
6	80,2 ±0,0	0,4754 ±0,03	0,25 ±0,03	1,0 ±0,0	Neg	Neg
7	79,7 ±0,0	0,6781 ±0,13	0,23 ±0,02	0,5 ±0,0	Neg	Neg
8	80,2 ±0,0	0,6725 ±0,02	0,17 ±0,04	1,0 ±0,0	Neg	Neg
9	78,2 ±0,0	0,7262 ±0,08	0,55 ±0,08	1,0 ±0,0	Neg	Neg
10	77,7 ±0,0	0,5944 ±0,03	0,77 ±0,14	0,5 ±0,0	Neg	Neg
11	77,7 ±0,0	0,6964 ±0,07	0,52 ±0,21	1,0 ±0,0	Neg	Neg
12	79,9 ±0,0	0,7093 ±0,07	0,28 ±0,08	0,5 ±0,0	Neg	Neg
Total	79,38 ±1,00	0,591 ±0,14	0,35 ±0,20	1,00 ±0,43		

Media (n=3) ± Desvio padrão

Neg = negativo

O valor de gorduras totais encontradas nas amostras de mel com própolis foram desde 0,07% na amostra nº. 4 até 0,77% na amostra nº. 10.

Não existem bases para a comparação das quantidades de proteínas no mel com própolis, e as concentrações obtidas variaram de 0,3379% na amostra nº. 4 até 0,7262% na amostra nº. 9. Segundo BATH & SINGH, (1999) a variação de proteínas encontrada no mel puro está relacionada ao tipo floral e em seu

trabalho encontrou médias de 0,036% e 0,6% de proteínas em méis de *Helianthus annuus* e *Eucalyptus lanceolatus*, respectivamente.

As análises qualitativas Fiehe e Lugol apresentam resultados negativos para todas as amostras de mel com própolis, assim como a presença de precipitado de 0,6 a 3 mL, sugerindo que se trata realmente de mel, e que o mesmo não se encontra adulterado com açúcar ou glicose comercial (IAL, 1985).

Em relação a análise de cor, a amostra 4 estava na faixa de 83mm a 114mm relativa a cor âmbar, as demais amostras estavam numa faixa acima de 114mm relativa a cor âmbar escuro. As análises da cor do mel estão dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação do mel puro, que pode apresentar coloração desde branco água até âmbar escuro (BRASIL, 2000)

Na análise do teor alcoólico as leituras mostraram não haver indícios de álcool em nenhuma das amostras de mel com própolis. O álcool etílico utilizado na extração da própolis é muito volátil, sendo que provavelmente uma parte deste é perdida durante a mistura (COSTA & PEREIRA, 2002).

7.3 Resultados obtidos nas análises de minerais

Os resultados das análises dos minerais ferro, magnésio, zinco e cálcio nas amostras de mel, própolis e mel com própolis estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6. Resultados das análises dos minerais ($\mu\text{g/g}$) ferro, magnésio, zinco e cálcio nas amostras de mel, própolis e mel com própolis

Amostra	Fe ($\mu\text{g/g}$)	Mg ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)	Ca ($\mu\text{g/g}$)
Mel	2,30 $\pm$ 0,13 (5,65)	146,15 $\pm$ 1,36 (0,93)	2,19 $\pm$ 0,09 (4,11)	16,53 $\pm$ 1,46 (8,83)
Própolis	-	17,47 $\pm$ 0,42 (2,40)	2,97 $\pm$ 0,01 (0,34)	12,06 $\pm$ 0,27 (2,24)
1	1,56 $\pm$ 0,00 (0,00)	134,68 $\pm$ 2,83 (2,10)	1,73 $\pm$ 0,02 (1,16)	153,12 $\pm$ 5,14 (3,36)
2	4,11 $\pm$ 0,33 (8,03)	63,97 $\pm$ 1,84 (2,87)	7,84 $\pm$ 0,34 (4,34)	131,76 $\pm$ 5,20 (3,95)
3	4,35 $\pm$ 0,09 (2,07)	48,34 $\pm$ 1,45 (3,00)	1,49 $\pm$ 0,03 (2,01)	127,54 $\pm$ 15,07 (11,82)
4	0,86 $\pm$ 0,06 (6,98)	109,64 $\pm$ 1,01 (0,92)	0,69 $\pm$ 0,01 (1,45)	123,82 $\pm$ 1,96 (1,58)
5	5,79 $\pm$ 0,05 (0,86)	56,29 $\pm$ 1,26 (2,34)	0,79 $\pm$ 0,24 (30,38)	152,91 $\pm$ 1,43 (0,94)
6	1,91 $\pm$ 0,11 (5,76)	107,34 $\pm$ 3,78 (3,52)	2,27 $\pm$ 0,12 (5,29)	104,85 $\pm$ 0,54 (0,52)
7	1,28 $\pm$ 0,03 (2,34)	21,70 $\pm$ 0,09 (0,41)	0,73 $\pm$ 0,01 (1,37)	53,81 $\pm$ 2,40 (4,46)
8	3,78 $\pm$ 0,17 (4,50)	78,16 $\pm$ 3,68 (4,71)	0,53 $\pm$ 0,04 (7,55)	101,53 $\pm$ 5,43 (5,35)
9	5,22 $\pm$ 0,04 (0,77)	79,54 $\pm$ 1,83 (2,30)	1,72 $\pm$ 0,02 (1,16)	116,99 $\pm$ 3,04 (2,60)
10	1,11 $\pm$ 0,05 (4,50)	125,52 $\pm$ 4,13 (0,03)	3,32 $\pm$ 0,18 (5,42)	110,86 $\pm$ 2,44 (2,20)
11	1,72 $\pm$ 0,06 (3,49)	129,78 $\pm$ 0,18 (0,14)	1,21 $\pm$ 0,01 (0,83)	230,06 $\pm$ 14,44 (6,28)
12	5,24 $\pm$ 0,09 (1,72)	193,55 $\pm$ 9,95 (5,14)	1,19 $\pm$ 0,05 (4,20)	148,17 $\pm$ 8,54 (5,76)

n=3 Média $\pm$ Desvio padrão (CV) = Coeficiente de variação

As análises de minerais no mel com própolis mostraram grandes variações entre as amostras (Tabela 6) e a maior oscilação foi com relação ao zinco que variou de 0,53µg/g na amostra nº. 8 até 7,84µg/g na amostra 2. A quantidade de ferro variou de 0,86µg/g à 5,79µg/g nas amostras nº. 4 e 5 respectivamente. O magnésio e o cálcio foram encontrados em maiores concentrações; na amostra nº. 12 foi encontrada a maior concentração de Mg (193,55µg/g) e na amostra nº. 7 foi obtida a menor concentração Mg de (21,70µg/g), que também apresentou menor concentração de cálcio (53,81 µg/g). Na amostra nº. 11, foi encontrada a maior quantidade de cálcio (230,06µg/g).

De acordo com os valores indicados pelo “Dietary References Intakes” (IOM, 2004), todos os minerais encontrados no mel citados acima não são fonte desses nutrientes, uma vez que os valores recomendados para a ingestão diária para homens adultos são de: Fe (8 mg); Mg (420 mg); Zn (11 mg) e Ca (1000mg).

7.4 Valor energético

Os valores energéticos obtidos para o mel puro e com adição de própolis estão apresentados na Tabela 7. Os valores desta tabela estão expressos em kcal/100g e Kcal/20 mL porque, segundo a Resolução 39 (BRASIL, 2001c), a porção a ser declarada para o mel é de 20 mL o que equivale a uma colher de sopa.

Tabela 7. Valor energético calculado para as amostras de mel puro e méis com própolis, utilizando-se 100g e a porção de 20 mL(1 colher)

Amostra	Valor energético (Kcal/100g)	Valor energético (Kcal/20 mL)
Mel puro	298,10	77,43
1	307,89	79,97
2	343,69	89,27
3	310,62	80,68
4	297,83	77,36
5	296,56	77,03
6	300,30	78,00
7	282,90	73,48
8	306,21	79,53
9	303,74	78,89
10	291,10	75,61
11	296,18	76,90
12	334,40	86,84

*Proporção de própolis não declarada no rótulo.

No rótulo padrão de mel puro apresentado no site da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA,SD), utilizando-se o Programa para Cálculo de Informações Nutricionais Obrigatória nos Rótulos de Alimentos e Bebidas, a porção de 20 mL fornece 45 Kcal. No mesmo site da ANVISA, utilizando-se a Resolução nº. 39 (BRASIL, 2001c) a informação é de que o mel fornece 90 Kcal/20 mL mencionando-se como fonte o resultado do USDA. No caso da Tabela 7, calculou-se, para a mesma porção (20 mL), o valor de 77,43 Kcal, valor este

que aumenta com a adição de própolis. O mel com própolis forneceria portanto um maior aporte energético ao consumidor do que o mel puro.

7.5 Análise da rotulagem

Das onze amostras comerciais analisadas (amostras 2 a 12), dez apresentaram o carimbo do SIF (Serviço de Inspeção Federal) e uma apresentou o carimbo do SISP (Serviço de Inspeção do Estado de São Paulo), indicando que as empresas responsáveis pelos produtos são fiscalizadas pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento.

Segundo a Resolução RDC no. 40, de 21 de março de 2001 (BRASIL,2001d), todos os alimentos são obrigados a apresentar rotulagem nutricional, ou seja a declaração de valor calórico, nutrientes e componentes. Apesar desta obrigatoriedade, somente cinco amostras (2, 3, 4, 8 e 12) das onze amostras analisadas apresentaram esta declaração. Esta falta de rotulagem nutricional reforça ainda mais a importância de se ter uma legislação brasileira específica para o controle de qualidade dos méis compostos.

A comparação dos valores declarados na informação nutricional com os valores obtidos experimentalmente está apresentada na Tabela 8.

Tabela 8. Comparação entre os valores declarados e os obtidos para carboidratos, proteínas, gorduras totais valor calórico. (g/20mL)

AMOSTRA	2	3	4	8	12
Carboidratos*	25	21	17 a 19	16	23
Carboidratos**	22	20	19	20	21
Proteínas*	0	0,05	0,15 a 0,78	0	0
Proteínas**	0,17	0,15	0,09	0,17	0,18
Gorduras Totais*	0	0,05	0,005 a 0,52	0	0
Gorduras Totais**	0,06	0,05	0,01	0,04	0,07
Valor energético(Kcal)*	100	85	78 a86	70	90
Valor energético(Kcal)**	89	81	76	81	87

* Valores declarados no rótulo

** Valores obtidos por análise

Os valores das amostras 2 e 4 estavam declarados com g/100g, e foram transformados em g/20mL que é o padrão da legislação.

Comparando-se os valores declarados com os obtidos quanto aos carboidratos podemos notar que os valores estão próximos.

No rótulo da amostra nº. 4, nota-se que o fabricante apresenta uma margem de variação para os valores nutricionais e mesmo assim os valores declarados para proteínas e valor calórico foram diferentes dos obtidos em laboratório.

Nas amostras nº. 2 e 8 que no rótulo declarava quantidade de proteína zero, foram encontradas 0,17 g/20 mL, na amostra nº. 12 havia 0,18g/20 mL e na amostra nº. 3 que declarou 0,05g/20 mL, continha 0,15 g/20 mL.

No rótulo da amostra nº. 2, 8 e 12 declarava valor de gorduras totais zero, na análise laboratorial foi obtido 0,06, 0,04 e 0,07 g/20mL

respectivamente. Os valores encontrados nos rótulos podem ter sido arredondados para uma casa decimal, apresentando esta diferença dos valores obtidos nas análises.

O valor calórico declarado na amostra nº. 2 era de 100 Kcal/20mL, o valor obtido foi de 89 Kcal/20mL, já na amostra nº. 8 que declarava 70 Kcal/20mL foi encontrado 81 kcal/20mL, e na amostra nº. 12 declarou 90 Kcal.20mL e foi obtido 87 Kcal/20mL.

De acordo com a Consulta Pública (Resolução n. 01 de 19 de junho de 2001), os méis adicionados de própolis devem conter em seus rótulos a designação de venda “**mel com própolis**“. Das onze amostras analisadas dez estão de acordo com a Resolução e a amostra nº. 6 apresentou a alegação “**mel enriquecido com própolis**”, o que está em desacordo com esta Resolução. Na mesma Resolução é mencionado que o rótulo deve conter a lista de ingredientes presentes nos produtos. As amostras nº. 2, 5, 7 e 8 estão de acordo com a Resolução 01 (BRASIL, 2001b). As amostras nº. 6, 9 e 10 não apresentam a lista de ingredientes e as amostras nº. 3 e 4 citam a palavra “composição” ao invés de “ingredientes”.

Na Resolução 01 (BRASIL, 2001b) é citado que não serão admitidas expressões tais como “**Produto natural**” e a amostra nº. 3 diz exatamente isso no rótulo.

Na rotulagem de quatro amostras (amostras 8, 10, 11 e 12) não foi declarado o quanto de extrato de própolis foi adicionado ao mel. As amostras nº. 1,2,3,4,5 e 9 declararam adição de 2% de extrato de própolis nas amostras. As amostras nº. 6 e 7 declararam adição de 5% de extrato de própolis adicionado.

8. CONCLUSÕES

As amostras de mel com própolis apresentaram resultados próximos ao mel com exceção da análise de atividade diastásica, que diminuiu.

Nas análises de minerais no mel com própolis foi constatado, que as amostras analisadas não são fontes de nenhum dos minerais estudados.

O mel é um alimento rico em calorias e adicionado de 2 % de própolis o valor energético aumentou 3,2 %.

A análise da rotulagem indica a falta de informações obrigatórias nos rótulos.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS^(*)

ABU-TARBOUSH, H.M.; AL-KAHTANI, H.A.; EL-SARRAGE, M.S. Floral-type identification and quality evaluation of some honey types. **Food Chem.**, Amsterdam, v.46, p.33-17, 1993.

ANDRADE, P. B.; AMARAL, M. T., ISABEL, P. CARVALHO, J. C. M. F.; SEABRA, R. M.; CUNHA, A. P. Physicochemical attributes and pollen spectrum of portuguese heather honeys. **Food Chem.**, Amsterdam, v.66, p.503-510, 1999.

ANKLAM, E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. **Food Chem.**, Amsterdam, v.63, n.4, p.549-562, 1998.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (<http://www.anvisa.gov.br>)

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Arlington: AOAC, 1990. 500p.

^(*) De acordo com a ABTN-NBR 6023/2000.

As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o CASSI (2002)

AZEREDO, M.A.A.; AZEREDO, L.C.; SOARES, J.C.A. Determinação de potássio em méis após precipitação com tetrafenilborato de sódio e separação em coluna de troca-iônica. **Quim. Nova**, São Paulo, v.21, n.5, p.251-254, 1998.

BANKOVA, V.S.; CASTRO, S.L.; MARCUCCI, M.C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, Les Ulis, v.31, p.3-15, 2000.

BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Recent progress in pharmacological research of propolis. **Phytother. Res.**, Bognor Regis, v.15, n.7, p.561-571, 2001.

BARHATE, R.S.; SUBRAMANIAN, R.; NANDINI, K.E.; HEBBER, H.U. Processing of honey using polymeric microfiltration and ultrafiltration membranes. **J. Food Eng.**, Oxford, v.60, n.1, p.1-6, 2003.

BASTOS, E.M.; DAYRELL, I.O.; SAMPAIO, I.B.; JOLK, L. Correlation between pollen spectrum and physico-chemical proprieties of honeys produced in the Minas Gerais State (Brazil). **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.16, n.2, p.146-152, 1996.

BATH, P.K.; SINGH, N. A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucapypthus lanceolatu* honey. **Food Chem.**, Amsterdam, v.67, p.389-387, 1999.

BOGDANOV, S. Honey quality and international regulatory standards: review by International Honey Commission. **Bee World**, Gerrard Cross, v.80, n.2. p.61-69, 1999.

BOGDANOV, S.; MARTIN, P.; LÜLLMANN, C. Harmonised methods of the European Honey Commission. **Apidologie**, Les Ulis, suppl., p.59, 1997.

BONVEHÍ, J. S.; COLL, F. V. Characterization of citrus honey (*citrus* Spp.) produced in Spain. **J. Food Chem.**, Columbus, v.43, p.2053-2057, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Defesa Animal. Legislações. Legislação por Assunto. Legislação de Produtos Apícolas e Derivados. Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001a. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geléia real, geléia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoain_03_2001.htm. Acesso em: 22 abr. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Defesa Animal. Legislações. Legislação por Assunto. Legislação de Produtos Apícolas e Derivados. Instrução Normativa n.11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/in_11_2000.htm. Acesso em: 22 abr. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Defesa Animal. Legislações. Consultas Públicas 2001. Resolução n.01, de 19 de junho de 2001b. Consulta Pública que uniformiza os procedimentos na análise e aprovação por parte do Serviço dos memoriais descritivos dos processos de elaboração e dos rótulos do mel e demais produtos apícola com adições. DOU de 04 jul. 2001. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/resolucao01_190601.htm. Acesso em: 25 out. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Alimentos. Legislação específica da área por assunto. Rotulagem de Alimentos. Resolução RDC n.39, de 21 de março de 2001c. Regulamentos técnicos de valores de referência para porções de alimentos e bebidas embalados para fins de rotulagem nutricional. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/39_01rdc.htm. Acesso em: 25 out. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Alimentos. Legislação. Legislação específica da área por assunto. Rotulagem de Alimentos. Resolução - RDC n.40, de 21 de março de 2001d. Regulamento técnico para rotulagem nutricional obrigatória de alimentos e bebidas embalados. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/40_01rdc.htm. Acesso em: 25 out. 2002.

BRASIL. Portaria SIPA n.006, de 25 de julho de 1985. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2 de ago. de 1985. Seção 1, p.11100.

- CAMPOS, M.G.R. Contribuição para o estudo de mel, pólen, geléia real e própolis. **Bol. Fac. Farm. Coimbra**, Coimbra, v.11, n.2, p.17-47, 1987.
- CANO, C.B.; FELSNER, M.L.; MATOS, J.R.; BRUNS, R.E.; WHATANABES, H.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Comparison of methods for determining moisture content of citrus and *Eucalyptus Brazilian* honeys by refratometry. **J. Food Compos. Anal.**, Sidcup, v.14, p.101-109, 2001.
- CANO, C.B.; ZAMBONI, C.Q.; ALVES, H.I.; SPITERI, N.; ATUI, M.B.; SANTOS, M.C.; JORGE, L.I.F.; PEREIRA, U.; RODRIGUES, R.M.M. Mel: fraudes e condições sanitárias. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v.52, p.1-4, 1992.
- CAROLI, S.; FORTE, G.; IAMICELI, A.L.; GALOPPI, B. Determination of essential and potentially toxic trace elements in honey by inductively coupled plasma-based techniques. **Talanta**, Amsterdam, v.50, p.327-336, 1999.
- CAVIA, M.M.; FERNÁNDEZ-MUIÑO, M.A.; GÓMEZ-ALONSO, E.; MONTES-PÉREZ, M.J.; HUIDOBRO, J.F.; SANCHO, M.T. Evolution of fructose and glucose in honey over one year: influence of induced granulation. **Food Chem.**, Amsterdam, v.78, p.157-161, 2002.

COCO, F.; VALENTINI, C.; NOVELLI, V.; CECCON, L. High-performance liquid chromatographic determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in honey. **J. Chromatogr., A**, Amsterdam, v.749, p.95-102, 1996.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex standards for sugars (honey)**. Rome: FAO, 1989. 21p.

COSTA, C.C.; PEREIRA, R.B. The influence of propolis on the rheological behavior of pure honey. **Food Chem.**, Amsterdam, v.76, p.417-421, 2002.

COSTA, L.S.M.; ALBUQUERQUE, M.L.S.; TRUGO, L.C.; QUINTEIRO, L.M.C.; BARTH, O.M.; RIBEIRO, M.; MARIA, C.A.B. Determination of non-volatile compounds of different botanical origin Brazilian honeys. **Food Chem.**, Amsterdam, v.65, p.347-352, 1999.

COSTA NETO, P.L.O. **Estatística**. São Paulo: Edgard Blücher, 1977. 262p.

CRANE, E. **Honey**. London: Morrison and Gibb, 1975. 608p.

CRANE, E. **O Livro do mel**. 2.ed. São Paulo. Livraria Nobel, 1987. p.226.

FARIA, J.A.F. Shelf life testing of honey. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.13, n.1, p.58-66, 1993.

GOMEZ, M. E. M.; HERNANDEZ, E. G.; GOMES, J. Y. M.; MARIN, J. L. M.

Physicochemical analysis of Spanish commercial Eucalyptus honeys. **J. Apic. Res.**, Georgia, v.32, n.3/4, p.121-126. 1993

GONZALES, A.P.; BURIN, L.; BUERA, M.P. Color changes during storage of

honeys in relation to their composition and initial color. **Food Res. Int.**, Amsterdam, v.32, p.165-191, 1999.

HAYDAK, M.H. Biological properties of honey. In: CRANE, E. **Honey: a comprehensive survey**. London: Heinemann, 1975. p.258-266.

INSTITUTE OF MEDICINE OF THE NATIONAL ACADEMIES (IOM). **Food & Nutrition.Dietary Reference Intakes** Tables. Elements. Disponível em: <http://www.iom.edu/>, Acesso em: 25/01/2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3.ed. São Paulo: IAL, 1985. 533p.

ISENGARD, H.D.; PRÄGER, H. Water determination in products with high sugar content by infrared drying. **Food Chem.**, Amsterdam, v.82, n.1, p.161-167, 2003.

ISENGARD, H.D.; SCHULTHEIB, D.; RADOVIC, B.; ANKLAM, E. Alternatives to official analytical methods used for the water determination in honey. **Food Control**, Amsterdam, v.12, p.459-466, 2001.

ISENGARD, H.D.; SCHULTEIB, D. Water determination in honey – Karl Fischer titration, an alternative to refractive index measurements? **Food Chem.**, Amsterdam, v.82, n.1, p.151-154, 2003.

KOMATSU, S.S.; MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.C.C. Análises físico-químicas de amostras de méis de flores silvestres, de eucalipto e de laranjeira, produzidos por *Apis mellifera* L., 1758 (HYMENOPTERA, APIDAE) no Estado de São Paulo. 2. Conteúdo de açúcares e de proteínas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.22, n.2, p.143-146, 2002.

LANARA. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. II - Métodos físicos e químicos. Mel. Ministério da Agricultura. Brasília: v. 2, p. 1-15, 1981.

LAPPONI, J.C. **Estatística usando excel 5 e 7**. São Paulo: Laponi Treinamento, 1997. 401p.

LEITE, J.M.C.; TRUGO, L.C.; COSTA, L.S.M.; QUINTEIRO, L.M.C.; BARTH, O.M.; DUTRA, V.M.L.; MARIA, C.A.B. Determination of oligosaccharides in Brazillian honey of different botanical origin. **Food Chem.**, Amsterdam, v.70, p.93-98, 2000.

LÓPEZ-GARCÍA, I.; VINAS, P.; BLANCO, C.; HERNANDEZ-CORDOBA, M. Fast determination of calcium, magnesium and zinc in honey using continuous flow flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, Amsterdam, v.49, n.3, p.597-602, 1999.

MARCHINI, L.C. Apicultura: um padrão nacional para o mel. **Pesquisa FAPESP** n.59, 2000. Disponível em: <http://revistapesquisa.fapesp.br:2222/?lang=pt&issue=20001159>. Acesso em: 12/04/2003.

MARCUCCI, M.C.; LEVY Jr., N.C. **Curso de análise de própolis**. Pindamonhangaba: Centro de Apicultura Tropical, Secretaria da Agricultura, 1998. 17p.

MARCUCCI, M.C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, Les Ulis, v.26, p.83-99, 1995.

MARCUCCI, M.C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Quim. Nova**, São Paulo, v.19, n.5, p.529-535, 1996.

MARKHAM, K.R.; MITCHELL, K.A.; WILKINS, A.L.; DALDY, J.A.; LU, Y. HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. **Phytochemistry**, Oxford, v.42, n.1, p.205-211, 1996.

MATEO, R.; BOSCH-REIG, F. Classification of Spanish unifloral honeys by discriminant analysis of electrical conductivity, color, water content, sugars, and pH. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.46, p.393-400, 1998.

MATEO, R.; BOSCH-REIG F. Sugar profiles of Spanish unifloral honeys. **Food Chem.**, Amsterdam, v.60, n.1, p.33-41, 1997.

MATO, I.; HUIDOBRO, J. F.; CENDON, V.; MUNIATEGUI, S.; FERNANDEZ-MUINO, M.A.; SANCHO, M.T. Enzymatic determination of citric acid in honey by using polyvinylpolypyrrolidone clarification. Amsterdam, **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.46, n.1, p.141-144, 1998.

MENDES, E.; PROENÇA, E. B.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; FERREIRA, M. A. Quality evaluation of portuguese honey. **Carboyd. Polym.**, v. 37, p. 219-223, 1998.

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

NAGAI, T.; INOUE, R.; INOUE, H.; SUZUKI, N. Preparation and antioxidant proprieties of water extract of propolis. **Food Chem.**, Amsterdam, v.80, p.29-33, 2003.

- NAGAI, T.; SAKAI, M.; INOUE, R.; INOUE, H.; SUZUKI, N. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. **Food Chem.**, Amsterdam, v.75, p.237-240, 2001.
- NANDA, V.; SALKAR, B. C.; SHARMA, H. K.; BAWA, A. S. Physico-chemical proprieties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in northern India. **J. Food Compos. Anal.**, Sidcup, v.16, p. 613-619, 2003.
- NOZAL, M.J.; BERNAL, J.L.; DIEGO, J.C.; GÓMEZ, L.A.; RUIZ, J.M.; HIGES, M. Determination of oxalate, sulfate and nitrate in honey and honeydew by ion-chromatography. **J. Chromatogr., A**, Amsterdam, v.881, n.1/2, p.629-638, 2000.
- NOZAL, M.J.; BERNAL, J.L.; PORIBIO, L.; JIMÉNEZ, J.J.; MARTIN, M.T. High-performance liquid chromatographic determination of methyl anthranilate, hydroxymethylfurfural and related compounds in honey. **J. Chromatogr., A**, Amsterdam, v.917, p.95-103, 2001.
- PARK Y .K.; IKEGAKI M.; ABREU J. A. S; ALCICI N. M. F. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.18, n.3, p.1-14, 1998.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Classificação das própolis brasileiras a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas.

Mensagem Doce, São Paulo, n.58, p.2-7, 2000.

PEREZ-ARQUILLUÉ, C.; CONCHELO, P.; ARIÑO, A.; JUAN, T.; HERRERA, A.

Quality evaluation of Spanish rosemary (*Rosmarinus officinalis*) honey. **Food Chem.**, Amsterdam, v.51, p.207-210, 1994.

PIETTA, P.G.; GARDANA, C.; PIETTA, A.M. Analytical methods for quality control of propolis. **Fitoterapia**, Amsterdam, v.73, suppl.1, p.S7-S20, 2002.

RODRÍGUEZ, E.G.; ABELLÁN, G.B.; VILLANUEVA, M.T.O. Macroelements in dietetic products containing propolis. **Food Chem.**, Amsterdam, n.66, p.15-19, 1999.

ROSSI, N.F.; MARTINELLI, L.A.; LACERDA, T.H.M.; CAMARGO, P.B.; VICTÓRIA, R.L. Análise da adulteração de méis por açúcares comerciais utilizando-se a composição isotópica de carbono¹. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.19, n.2, p.1-16, 1999.

SANCHO, M.T.; MUNIATEGUI, S.; HUIDOBRO, J.F.; LOZANO, J.S. Aging of honey. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.40, p.134-138, 1992.

- SANNA, G.; PILO, M.I.; PIU, P.C.; TAPPARO, A.; SEEGER, R. Determination of heavy metals in honey by anodic stripping voltammetry at microelectrodes. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, v.415, p.165-173, 2000.
- SANTOS, A. V.; TEIXEIRA, A. S.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R. T. F.; GUIMARÃES, A. M.; GIACOMETTI, R. A. Valor nutritivo do resíduo de própolis para frangos de corte. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v.27, n.5, p.1152-1159, 2003.
- SATO, T.; MIYATA, G. The nutraceutical benefit. Part III: Honey. **Nutrition**, New York, n.16, p.468-469, 2000.
- SERRANO, R.B. La miel: edulcorante natural por excelencia. **Alimentaria**, Madrid, n.29, p.29-35, 1994.
- STRONG, F.C.; DUARTE, A.M.A. Análise de méis comerciais brasileiros para detectar adulteração com xarope de milho. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.5, n.2, p.116-122, 1985.
- SWALLOW, K.W.; LOW, N.H. Analysis and quantitation of the carbohydrates in honey using high-performance liquid chromatography. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.38, n.9, p.1828-1832, 1990.

TERRAB, A.; DÍEZ, J.M.; HEREDIA, J.F. Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. **Food Chem.**, Amsterdam, v.79, p.373-379, 2000.

TOSI, E.; CIAPPINI, M.; RÉ, E.; LUCERO, H. Honey thermal treatment effects on hidroxymethylfurfural content. **Food Chem.**, Amsterdam, v.77, p.71-74, 2002.

TREVISAN, M.D.P.; TREVISAN, M.; VIDAL, R. **Os produtos das abelhas**. Barretos: Faculdade de Ciências de Barretos, 1981. 24p.

USP. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**, 2001. Disponível em: <http://www.fcf.usp/tabela>. Acesso em: 06/02/2004

VILCKAS, M.; GRAMACHO, K.P.; GONÇALVES, L.S.; MARTINELLI, D.P. Perfil do consumidor de mel e o mercado de mel. **Mensagem Doce**, São Paulo, n. 64, p.1-17, 2003. Disponível em: http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/64/artigo_.htm. Acesso em: 06/02/2004

VILHENA, F.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. **Manual de análises físico-químicas de mel**. São Paulo: APACAME, 1999. 16p.

VIÑAS, P.; CAMPILLO, N.; CÓRDOBA, M.H. Simultaneous liquid chromatographic analysis of 5-(hidroxymethyl)-2-furfuraldehyde and methyl anthranilate in honey. **Food Chem.**, Amsterdam, v.44, p.67-72, 1992.

- VORLOVA, L; CELECHOVSKA, O. Activity of enzymes and trace element content in bee honey. **Acta vet. Brno.**, Czech Republic, v.71, p.375-378, 2002.
- WHITE, J.W. Composition of honey. In: CRANE, E. **Honey**: a comprehensive survey. London: Heinemann, 1975. p.207-239.
- WHITE, J.W. Hydroxymethylfurfural content of honey as an indicator of its adulteration with invert sugars. **Bee World**, Gerrard Cross, v.61, n.1, p.29-37, 1980.
- YILMAZ, H.; YAVUZ, Ö. Content of some trace metals in honey from south-eastern Anatolia. **Food Chem.**, Amsterdam, v.65, p.475-476, 1999.