UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e propriedades físico-químicas de méis de *Apis mellifera* do estado do Rio Grande do Sul

Kelly Souza do Nascimento

Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Orientadora: Prof.ª Assoc. Ligia Bicudo de Almeida Muradian

São Paulo
2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e propriedades físico-químicas de méis de *Apis mellifera* do estado do Rio Grande do Sul

Kelly Souza do Nascimento

Versão corrigida da Dissertação conforme resolução CoPGr 6018.
Original encontra-se disponível no Serviço de Pós-Graduação da FCF/USP

Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Orientadora: Prof.ª Assoc. Ligia Bicudo de Almeida Muradian

São Paulo

2016

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

Nascimento, Kelly Souza do
N244c Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e propriedades físico-químicas de méis de *Apis mellifera* do Estado do Rio Grande do Sul / Kelly Souza do Nascimento. -- São Paulo, 2016.
82p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.
Orientador: Muradian, Ligia Bicudo de Almeida

1. Mel : Ciência dos alimentos 2. Antioxidantes : Ciência dos alimentos I. T. II. Muradian, Ligia Bicudo de Almeida, orientador.

641.38 CDD

Kelly Souza do Nascimento

Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e propriedades físico-químicas de méis de *Apis mellifera* do estado do Rio Grande do Sul

Comissão julgadora da
Dissertação para obtenção do Título de Mestre

_____

Prof.ª Assoc. Ligia Bicudo de Almeida Muradian
Orientador/Presidente

_____

1º Examinador

_____

2º Examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2016

Ao meu conforto afetivo:

Minha mãe Ioneide Souza
Meu pai Antonio César
Meu irmão Tibério César

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof.ª Ligia, por ter me recebido em seu grupo de pesquisa, pelas oportunidades concedidas e pela confiança depositada em mim.

À Universidade de São Paulo, à Faculdade de Ciências Farmacêuticas, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos e ao CNPq, sou grata pela oportunidade de realizar esse trabalho.

Ao Prof. Aroni Sattler e ao Laboratório de Apicultura (LABAPIS) do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), gratidão pelo apoio e parceria.

Aos apicultores, sem vocês a realização desse trabalho não seria possível, nem a alegria de termos esse doce alimento em nossas mesas.

À Prof.ª Dra. Neuza Hassimotto, ao Dr. Alexandre Bera e a Prof.ª Dra. Sabria Aued, pelo cuidado que tiveram em melhorar esse trabalho no exame de qualificação.

À Luciene Lauer pelo infatigável apoio. Seu compromisso, ajuda, inteligência e simplicidade, me entusiasmaram diariamente, sou grata pelos ensinamentos, levarei comigo.

Ao Elias, que tanto me ajudou na reta final. Sou grata por você ser esse ser atento a necessidade do outro e por estar sempre disposto a ajudar.

Ao Guto, que desde o início me ajudou, guiou, ensinou e acalmou. Sua imensa ajuda e amizade foram fundamentais para que tudo desse certo.

À Illana e a Lu Tedesco por serem tão afetuosas e dispostas a ajudar. Sou grata por tamanha prontidão e generosidade.

À Simone, que é um daqueles seres humanos que amamos estar perto, sou grata pelos ricos conselhos sobre o trabalho e a vida.

À Carol Senna por sua amável companhia, pela cumplicidade, ajuda, amizade, e por me apresentar *el patacon* e o delicioso suco de *lulo*. Uma alegria te conhecer e trabalhar com você.

Aos colegas do laboratório de alimentos: Alice, Beatriz, Carlos, Daniel, Fabi, Flávia, Gabi Lima, Gabi Cunha, Giovana, Helena, Helo, Júlia, Luana, Marcio, Prof.ª Ines Genovese, Renata, Rosa, Shirlene e Tati, sou grata pelo companheirismo, ajuda e apoio diários.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação pela atenção e eficiência, e aos demais funcionários da FCF que contribuem diariamente para nossa segurança, higiene e conforto, gratidão pelo cuidado.

Aos meus amados pais (mainha e painho), o reconhecimento pelo esforço e dedicação para com a minha vida desde o momento em que nasci. A vocês que cuidaram tão bem de mim e me ensinaram que virtudes antecedem qualquer ação/decisão. A vocês... toda minha gratidão!

Ao Tibério, querido irmão, uma honra crescer ao seu lado! Sou grata pelo incansável apoio e bondade. Que sorte a minha ser a caçula tendo você como irmão, desde pequena me espelhava em você. Você está muito mais nas minhas conquistas do que imagina.

Aos amigos, Kel, Mariel, Lory, Bebel, Paulo, Caio e Rafa, meus cafunés na alma. Sou grata por todos os momentos e por me mostrarem o amor na sua melhor forma, a amizade.

Minha sincera gratidão.

“ *O poderoso espetáculo da vida continua, e você pode contribuir com um verso (...) qual será o seu verso?* ”

(*Dead Poets Society*, 1989)

RESUMO

NASCIMENTO, K. S. **Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e propriedades físico-químicas de méis de *Apis mellifera* do estado do Rio Grande do Sul.** 2016. 82f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

O mel é um alimento doce feito por abelhas a partir do néctar das flores. Estudos consideram o mel um adoçante natural, fonte de compostos antioxidantes, que quando incluídos na dieta tornam-se aliados contra danos oxidativos. No entanto, a composição do mel é muito variável, pois depende da fonte floral que o origina, das condições ambientais onde é produzido e do modo como é recolhido e processado. A região Sul distingue-se das demais regiões brasileiras em função do seu clima e vegetação. Além disso, o somatório dos principais estados da região Sul representa 49 % da produção de mel do país, destacando-se o estado do Rio Grande do Sul (RS) como o maior produtor. Uma recente pesquisa demonstrou que outro produto da colmeia, o pólen apícola, produzido na mesma região, apresentou maior capacidade antioxidante quando comparado ao pólen produzido em outras regiões do país, tornando oportuna a busca por méis com possíveis efeitos benéficos à saúde. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar os méis de *Apis mellifera*, produzidos no estado do RS, quanto as propriedades físico-químicas e antioxidantes, e estabelecer correlações com a origem botânica. Para isso, foram obtidas 52 amostras, adquiridas na Casa do Mel, em Viamão, no RS, de diversas origens botânicas e diferentes locais do estado. As propriedades físico-químicas avaliadas foram: análise melissopalinológica, umidade, cinzas, condutividade elétrica, pH e acidez livre, cor, atividade diastásica, açúcares, hidroximetilfurfural (HMF) e reações qualitativas de Fiehe e Lund, de acordo com as análises preconizadas pelas normas brasileira e internacional. A avaliação das propriedades antioxidantes consistiu na identificação e quantificação dos compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência; determinação da capacidade redutora do Folin-Ciocalteu; determinação de flavonoides totais; capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC); determinação do poder redutor do ferro (FRAP); e sequestro do radical estável DPPH. Os resultados para a análise físico-química caracterizaram os méis em: monoflorais (eucalipto, aroeira, quitoco, uva japão, flor do campo e laranjeira) e heterofloral; a umidade apresentou média de 18,3±0,7 % (máx. 20); o valor médio para cinzas foi de 0,3±0,2 % (máx. 0,6); a condutividade elétrica foi de 0,59±0,2 $mS.cm^{-1}$ (máx. 0,8); o pH com média de 4,18±0,3 e a acidez livre com 32±9,8 $mEq.Kg^{-1}$ (máx. 50); a cor variou do extra branco ao âmbar; a média da atividade diastásica foi de 16,4±11,0 °Gothe (mín. 8); as médias para frutose e glicose foram, respectivamente, 37,9±1,4 e 32±2,5 $g.100^{-1}$, onde a razão frutose/glicose foi de 1,2±0,1; o teor médio de HMF foi de 5,6±5,8 $mg.Kg^{-1}$ (máx. 60); e as reações de Fiehe e Lund apresentaram, respectivamente, resultados negativo e positivo para todas as amostras, indicando a pureza dos méis analisados. No que concerne à análise de antioxidantes, os ácidos gálico, cinâmico e o *p*-cumárico, e os flavonoides quercetina e miricetina, foram identificados. O teor de fenólicos e flavonoides totais foram de 61,3±18,3 $mgEAG.Kg^{-1}$ e 0,7±0,7 $mgQE.100g^{-1}$, respectivamente. A capacidade antioxidante pelo método ORAC foi de 7,8±4,3 $mmolET.Kg^{-1}$; pelo ensaio FRAP foi de 1,2±0,6 $\mu molET.g^{-1}$; e pelo método DPPH (EC_{50}) foi de 72,4±89,8 $mg.ml^{-1}$. Os méis apresentaram-se de acordo com os parâmetros físico-químicos exigidos pela legislação brasileira e recomendações internacionais, para o controle de qualidade do mel. A capacidade antioxidante foi semelhante à encontrada na literatura científica. As espécies botânicas que apresentaram maior atividade antioxidante foram eucalipto e aroeira. O conteúdo de fenólicos totais não apresentou diferença estatística entre esses dois tipos de méis, no entanto o teor de flavonoides nos méis de aroeira foi maior ($p<0,05$) do que o referido nos méis de eucalipto. O ácido gálico foi o composto majoritário presente nos méis de eucalipto e aroeira, e o ácido *p*-cumárico nos méis de uva japão. Por fim, as propriedades físico-químicas e biologicamente ativas dos méis foram influenciadas pela origem floral.

Palavras-chaves: Mel, propriedades físico-químicas, capacidade antioxidante, estado do Rio Grande do Sul.

ABSTRACT

NASCIMENTO, K. S. **Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of *Apis mellifera* honey from Rio Grande do Sul state**. 2016. 82f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Honey is a sweet food made by bees from the nectar of flowers. Previous studies consider honey as a natural sweetener, source of antioxidant compounds that when included in the diet become allies against oxidative damage. However, honey composition is variable because it depends on the floral source, environmental conditions where it is produced and how it is collected and processed. The southern region is different from other Brazilian regions because of its climate and vegetation. In addition, the sum of the main states of the South is 49% of the country's honey production, and Rio Grande do Sul (RS) state is the biggest producer. A recent study showed that another product of the hive, bee pollen, derived from this region showed higher concentrations of antioxidant compounds when compared to other regions of the country, encouraging researches for honeys with possible beneficial health effects. In this sense, this study aims to characterize *Apis mellifera* honey produced in the state of RS, as the physicochemical and antioxidants properties, and establish correlations with the botanical origin. For this, 52 samples were obtained, collected from Honey House, in Viamão, RS, of various botanical origins and different parts of the state. The physicochemical properties evaluated were: melissopalinological analysis, moisture, ash, electrical conductivity, pH and free acidity, colour, diastase activity, sugars, hydroxymethylfurfural (HMF), and Fiehe and Lund reactions, according to the analytical standards established by the Brazilian and international recomendations. The evaluation of antioxidant properties consisted in the identification and quantification of the phenolic compounds by high-performance liquid chromatography; determining the reducing capacity of the Folin-Ciocalteu; determination of total flavonoid; ability to absorb oxygen radical (ORAC); determining the reducing power of iron (FRAP); and DPPH radical scavenging method. The results for the physicochemical analysis characterized the honeys in: monofloral (eucalyptus, mastic, quitoco, Japan grapes, field flower and orange) and heterofloral; the average to moisture was 18.3±0.7 % (max. 20%); the average of ashes was 0.3±0.2 % (max. 0.6%); the electrical conductivity was 0.59±0.2 $mS.cm^{-1}$ (max. 0.8); the result to pH was 4.18±0.3 and free acidity was 32±9.8 $mEq.Kg^{-1}$ (max. 50); the colour varied to extra white to amber; the average of diastase activity was 16.4±11.0 °Gothe (min. 8); the average of glucose and fructose determination were, respectively, 37.9±1.4 and 32±2.5 $g.100^{-1}$; the ratio fructose/glucose was 1.2±0.1; the average content of HMF was 5.6±5.8 $mg.Kg^{-1}$ (max. 60); and the Fiehe and Lund reactions presented, respectively, negative and positive results to all samples, indicating the purity of honeys analyzed. Regarding the analysis of antioxidants, gallic acid, cinnamic acid and *p*-coumaric acid, and flavonoids quercetin and myricetin, were identified. Flavonoid and phenolic total content were 61.3±18.3 $mgEAG.Kg^{-1}$ and 0.7±0.7 $mgQE.100g^{-1}$, respectively. ORAC antioxidant capacity was 7.8±4.3 $mmolET.Kg^{-1}$; FRAP was 1.2±0.6 $\mu molET.g^{-1}$; and DPPH assay (EC_{50}) was 72.4±89.8 mg.ml-1. Analyzed honeys presented all physicochemical parameters in accordance to honey quality control from Brazilian and international recommendations. The antioxidant capacity was similar to data from scientific literature. The botanical species with the highest antioxidant activity were eucalyptus and mastic. Total phenolic content showed no statistical difference between these two types of honeys, however flavonoid content of mastic honeys was higher ($p<0.05$) than eucalyptus honeys. Gallic acid was the major compound present in eucalyptus and mastic honeys, and *p*-coumaric acid in Japan grape honeys. Finally, physicochemical and biologically active properties honeys were influenced by honey floral source.

Keywords: Honey, physicochemical properties, antioxidant capacity, state of Rio Grande do Sul.

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Fluxograma do processamento do mel.....	16
Figura 2	Estrutura química do HMF.....	20
Figura 3	Relação entre os metabolismos primário e secundário em plantas.....	22
Figura 4	Modelo estrutural básico dos ácidos hidroxicinâmicos e ácidos hidroxibenzoicos.....	23
Figura 5	Estrutura química das principais classes de flavonoides.....	23
Figura 6	Mapa do estado do Rio Grande do Sul indicando as regiões onde as amostras foram coletadas.....	32
Figura 7	Correlação da condutividade elétrica com o conteúdo de cinzas e acidez dos méis.....	49
Figura 8	Variação de cor nos méis analisados.....	50
Figura 9	Cromatogramas dos açúcares (a) Mistura dos padrões (b) Amostra de mel.....	51
Figura 10	Cromatogramas obtidos na análise de HMF (a) Padrão (b) amostra de mel.....	52
Figura 11	Capacidade antioxidante pelos métodos ORAC, DPPH e FRAP, e teor de fenólicos e flavonoides totais das amostras de méis, agrupadas por origem botânica.....	60
Figura 12	Correlação entre as análises da capacidade antioxidante pelos métodos ORAC, DPPH e FRAP.....	61
Figura 13	Correlação entre as análises da capacidade antioxidante pelos métodos ORAC, DPPH e FRAP com o conteúdo total de fenólicos e flavonoides.....	62
Figura 14	Correlação entre alguns parâmetros físico-químicos (acidez, pH, condutividade elétrica e cinzas) e o conteúdo de fenólicos totais dos méis.....	63
Figura 15	Cromatogramas dos compostos fenólicos majoritários presentes nos méis analisados. Ácido gálico a) padrão b) amostra (270nm); Ácido *p*-cumárico c) padrão d) amostra (310nm); Ácido cinâmico e) padrão f) amostra (280nm); Miricitina e Quercetina g) padrões h) amostra (370nm)	64

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Posicionamento dos países exportadores de mel no *ranking* mundial.....	16
Tabela 2	Especificações das normas brasileira e internacional para o controle de qualidade do mel.....	18
Tabela 3	Identificação das amostras por local e período de coleta.....	33
Tabela 4	Origem botânica identificada pela análise melissopalinológica nas amostras de méis.....	42
Tabela 5	Propriedades físico-químicas dos méis analisados.....	44
Tabela 6	Propriedades físico-químicas por origem botânica dos méis.....	46
Tabela 7	Capacidade antioxidante e compostos fenólicos dos méis agrupados por origem botânica.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HMF	Hidroximetilfurfural
mS	Milisiemens
Eq	Equivalente
EAG	Equivalente de ácido gálico
EQ	Equivalente de quercetina
CBF	Compostos bioativos fenólicos
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
°Gothe	Grau na escala Gothe
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
ORAC	Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio
AAPH	2,2′-azobis-(2-amidinopropano) Dihidrocloreto
FRAP	Poder Antioxidante Redutor do Ferro
TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-triazine
TROLOX	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-Carboxílico
F/G	Razão Frutose/Glicose
CFT	Conteúdo de Fenólicos Totais
ND	Número de Diastase
µmol	Micromol
mmol	Milimol
µM	Micromolar
nM	Nanomolar
mM	Milimolar
M	Molar
ET	Equivalente de Trolox
UV-VIS	Espectroscopia no Ultravioleta Visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 14
1.1. Considerações sobre a apicultura..... 14
1.1.1. Mel: definição, processamento e produção..... 15
1.1.2. Parâmetros de controle de qualidade do mel..... 18
1.1.3. Composição química e propriedades do mel..... 20
1.2. Compostos bioativos fenólicos em alimentos..... 21
1.3. Radicais livres e antioxidantes..... 24
1.4. Métodos para a avaliação da capacidade antioxidante..... 25
2. JUSTIFICATIVA..... 28
3. OBJETIVOS..... 30
3.1. Objetivo geral..... 30
3.2. Objetivos específicos..... 30
4. MATERIAL E MÉTODOS..... 32
4.1. Material..... 32
4.2. Métodos..... 34
4.2.1. Análise melissopalinológica..... 34
4.2.2. Determinação da umidade..... 34
4.2.3. Determinação do resíduo mineral fixo (cinzas) 34
4.2.4. Determinação da condutividade elétrica..... 34
4.2.5. Determinação do potencial hidrogeniônico (pH) e acidez livre..... 35
4.2.6. Determinação da cor..... 35
4.2.7. Determinação da atividade diastásica..... 35
4.2.8. Determinação de açúcares..... 35
4.2.9. Determinação do teor de hidroximetilfurfural (HMF) 36
4.2.10. Determinação qualitativa de HMF (reação de Fiehe) 36
4.2.11. Determinação da presença de albuminoides (Reação de Lund) 36
4.2.12. Determinação da capacidade redutora do Folin-Ciocalteu e teor de fenólicos totais..... 37
4.2.13. Determinação do teor de flavonoides totais..... 37
4.2.14. Determinação da capacidade antioxidante 37
4.2.14.1. Capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) 37

4.2.14.2. Sequestro do radical estável DPPH..... 38
4.2.14.3. Determinação do poder redutor do ferro – Método FRAP..... 38
4.2.15. Identificação e quantificação de compostos fenólicos..... 39
4.2.15.1. Preparação dos extratos..... 39
4.2.15.2. Cromatografia líquida de alta eficiência..... 39
4.3. Análise dos resultados..... 40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 42
5.1. Análise melissopalinológica..... 42
5.2. Umidade..... 42
5.3. Resíduo mineral fixo (cinzas) 43
5.4. Condutividade elétrica..... 47
5.5. pH e acidez livre..... 48
5.6. Cor..... 49
5.7. Atividade diastásica..... 50
5.8. Açúcares..... 51
5.9. Hidroximetilfurfural (HMF) 52
5.10. Reação de Fiehe..... 53
5.11. Reação de Lund..... 53
5.12. Capacidade redutora do Folin-Ciocalteu..... 53
5.13. Teor de flavonoides totais..... 54
5.14. Capacidade antioxidante nos méis..... 55
5.14.1. Capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) 55
5.14.2. Sequestro do radical estável DPPH..... 55
5.14.3. Poder redutor do ferro – Método FRAP..... 56
5.15. Identificação e quantificação de compostos fenólicos nos méis..... 63
6. CONCLUSÕES..... 68
REFERÊNCIAS..... 70

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações sobre a apicultura

A apicultura é a ciência, arte ou técnica de criação de abelhas. As abelhas são descendentes de vespas que mudaram sua alimentação para pólen e néctar à medida que surgia na terra uma nova classe de vegetais, plantas que produziam flores e frutas, chamadas fanerógamas. Ao longo desse processo evolutivo, surgiram várias espécies de abelhas. Essa cooperação entre abelhas e plantas foi essencial para a diversificação natural desses organismos, bem como para o surgimento de produtos que são utilizados pelo homem para fins alimentares e medicinais desde os primórdios até os dias atuais (PEREIRA et al., 2003; SOUZA, 2007).

Os produtos produzidos pelas abelhas incluem a cera de abelha, o pólen apícola, a geleia real, a própolis e o mel. A cera de abelha é um produto não comestível, muito utilizado pelas indústrias de cosméticos e conhecido por conter mais de 300 componentes, sendo a maior parte uma mistura de ácidos, vitamina A e outras substâncias com diferentes propriedades. O pólen apícola tem sido reconhecido como um produto potencial para aplicações médicas e nutricionais devido principalmente a presença de compostos bioativos. A geleia real, por sua vez, tem apresentado propriedades funcionais, tais como atividades antibacteriana, anti-inflamatória, vasodilatadoras, hipotensoras, antioxidante e antitumoral. A própolis é constituída principalmente por ceras e óleos essenciais de origem vegetal, sendo bastante utilizada pelo homem devido suas propriedades antibacterianas. Já o mel é o produto apícola mais consumido no mundo, desde a antiguidade, especialmente por ser um adoçante natural (MARCUCCI, 1996; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005; SABATINI et al., 2009; RAMADAN; AL-GHAMDI, 2012; PREMRATANACHAI; CHANCHAO, 2014).

O mel é um dos alimentos mais antigos ligados à história humana. O surgimento e a firmação da apicultura ocorreram devido a necessidade de aumentar a produção desse produto. Por vários séculos o mel foi retirado dos enxames de forma extrativista e predatória, causando muitas vezes morte das abelhas e danos ao meio ambiente. Com o passar do tempo o homem foi entendendo a necessidade de proteger os enxames, instalá-los em colmeias racionais e manejá-los, nascendo assim a apicultura (PEREIRA et al., 2003; BERA; ALMEIDA-MURADIAN, 2007).

No Brasil, a apicultura começou a ser praticada com a introdução da abelha da espécie *Apis mellifera* pelos jesuítas, a partir de 1840. Posteriormente, outras raças dessa

espécie foram trazidas por imigrantes europeus, principalmente nas regiões Sul e Sudeste. Em 1956 abelhas africanas foram introduzidas no país e, a união de abelhas africanas e europeias formou uma espécie híbrida, que passou a ser chamada de abelha africanizada. O caráter agressivo dessa espécie marcou um período difícil, onde houve abandono da atividade, morte de animais e pessoas, além da carência de mel no mercado consumidor, o que incentivou a falsificação do mel em todo o País. Após, aproximadamente, 10 anos foi estabelecido o controle sobre essas abelhas e sua capacidade de alta produtividade foi considerada. Atualmente, as abelhas africanizadas representam quase 90% das abelhas existentes no Brasil (WIESE, 2000; SEBRAE, 2015).

A apicultura é uma atividade conservadora e importante. É uma das poucas atividades no ramo da agropecuária que contempla todos os requisitos no tripé da sustentabilidade: (a) o econômico, porque gera renda para os agricultores; (b) o social, porque utiliza a mão-de-obra familiar no campo, diminuindo o êxodo rural; (c) e o ecológico, porque não há a necessidade de desmatamento para a criação de abelhas. Além disso, as abelhas são colaboradoras importantes para a agricultura moderna, através dos serviços de polinização que realizam. Dos 115 principais produtos alimentares globais 52 dependem da polinização das abelhas para que ocorra a produção. Dessa forma, constata-se que o setor apícola é um importante gerador de riquezas, capaz de unir o aumento da produtividade agrícola com a manutenção e desenvolvimento da fauna e flora da biodiversidade nacional (ABEMEL, 2015; KLEIN et al., 2007).

O Brasil é um grande produtor de alimentos, ao passo que apresenta fauna e flora diversificadas. Assim, a preservação de sua natureza e o incentivo à produção agrícola devem ser preocupações constantes. Nessa perspectiva, o setor apícola harmoniza-se como um ótimo contribuinte.

1.1.1. Mel: definição, processamento e produção

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

Após a maturação, ocorre a extração e o processamento do mel, os quais contemplam as etapas apresentadas na **Figura 1**. A realização desses procedimentos em

instalações e condições adequadas é fundamental para garantir a expedição de um produto final de qualidade (PEREIRA et al., 2003).

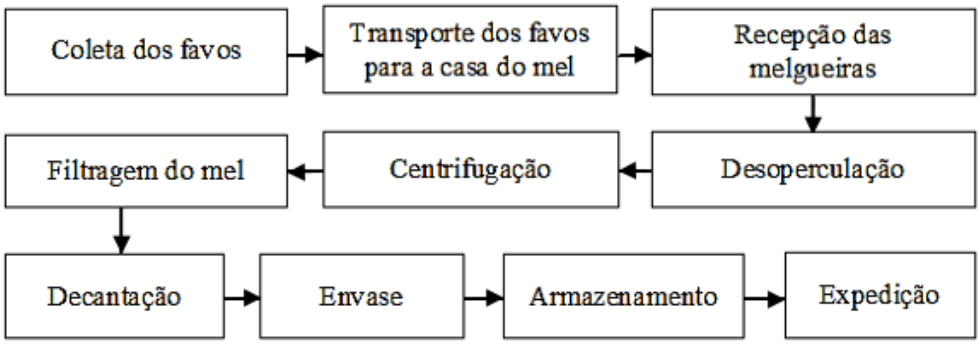


Figura 1. Fluxograma do processamento do mel (PAS, 2008; WIESE, 2000, adaptado).

Em relação à produção e exportação de mel, a China é líder no *ranking* mundial há alguns anos, de acordo com a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO). O Brasil, por sua vez, ocupou o 11° lugar nas últimas pesquisas. A **Tabela 1** apresenta o posicionamento dos países exportadores de mel no *ranking* mundial, no ano de 2013 (ABEMEL, 2015).

Tabela 1 – Posicionamento dos países exportadores de mel no *ranking* mundial.

Posicionamento	País exportador	Volume exportado (toneladas/ano)
	Exportação mundial	594.218
1	*China*	*124.901*
2	Argentina	65.180
3	Vietnã	35.313
4	México	33.458
5	Índia	30.099
6	Alemanha	22.628
7	Bélgica	22.020
8	Ucrânia	21.674
9	Espanha	21.284
10	Hungria	20.724
11	*Brasil*	*16.181*
12	Bulgária	12.658
13	Romênia	12.649
14	Uruguai	12.352
15	Canada	12.287
16	Tailândia	11.600
17	Itália	11.463
18	Nova Zelândia	9.592
19	Polônia	9.216
20	Chile	8.195

Fonte: Associação Brasileira dos Exportadores de mel (ABEMEL, 2015).

Nos últimos 40 anos, o setor apícola brasileiro tem crescido consideravelmente, onde as atividades progrediram mais de dez vezes. Por outro lado, em 2012, foi verificada queda de 19,3 % na produção do mel, no comparativo ao ano de 2011. Essa redução ocorreu devido à falta de floração consequente da seca advinda nesse período, o que levou a extinção da atividade apícola em muitas áreas. Naturalmente, o valor de produção também diminuiu (3,6 %), se comparado ao ano anterior. O preço do produto ascendeu de R$ 5,96 o quilo, em 2011, para R$ 7,11, em 2012 (IBGE, 2012).

Ressalta-se grande queda na produção dos estados do Nordeste do país, sobretudo no Piauí, Ceará, Pernambuco e Bahia. As regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste aumentaram suas produções em 2012, mas em volume insuficiente para compensar as quedas na região Nordeste do país (IBGE, 2012).

Os estados do Rio Grande do Sul (20,2 %), Paraná (16,4 %) e Santa Catarina (13,1 %) foram aqueles com maiores produções de mel em 2012. Não obstante, os três municípios com as maiores produções estão localizados no Sul: Bom Retiro (SC); Ortigueira (PR); e Içara (SC) (IBGE, 2012).

Em relação à exportação de mel no Brasil, houve redução de 25.987 toneladas em 2009 para 16.180 em 2013. Essa redução de aproximadamente 38% foi ocasionada por perdas de enxames nas regiões produtoras, devido principalmente aos episódios de seca. Esse acontecimento acarretou para a região Nordeste, que desde 2009 ocupava o posto de maior região exportadora, uma redução de 52% na produção e 25% nas exportações de mel, cedendo o lugar de principal produtor e exportador de mel do Brasil à região Sul (ABEMEL, 2015).

De acordo com o Sebrae (2014), o Brasil mantem um bom posicionamento nas exportações de mel em todos os anos (2008-2012). No entanto, apresentou melhor *ranking* em quantidade produzida, quando comparado com o *ranking* em valor de produção. Isso significa que países que produzem menores quantidades de mel estão oferecendo seu produto com maior preço. Países como Vietnã, Alemanha e Hungria, por exemplo, estavam em posições inferiores ao Brasil no *ranking* de exportação em 2011, considerando quantidade exportada, porém em posições superiores no *ranking* em valores exportados.

Nesse sentido, é fundamental a realização e incentivo de ferramentas que garantam a qualidade do produto exportado, contribuindo assim para a valorização do mel brasileiro, além de incentivar produções sustentáveis no país, as quais o governo brasileiro tem estimulado. Nesse contexto as análises físico-químicas são as principais ferramentas para a avaliação dos indicadores de qualidade no produto.

1.1.2. Parâmetros de controle de qualidade do mel

Existem especificações brasileira e internacional para o controle de qualidade do mel. O Codex Alimentarius (2001) estabelece parâmetros para a determinação da qualidade do mel. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por sua vez, aprovou no ano de 2000, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (BRASIL, 2000), com o propósito de padronizar o processamento, assegurar condições igualitárias e fornecer total transparência na elaboração e comercialização do produto brasileiro. Tanto a norma brasileira quanto a internacional estabelecem como requisitos de qualidade físico-química do mel as análises indicadas na **Tabela 2**.

Tabela 2. Especificações das normas brasileira e internacional para o controle de qualidade do mel.

Análises	Norma Brasileira	Norma Internacional
Umidade (%)	Máx. 20	Máx. 20
Açúcares redutores (%)	Mín. 65	Mín. 60
Sacarose aparente (%)	Máx. 6,0	Máx. 10
Sólidos insolúveis (%)	Máx. 0,1	Máx. 0,1
Minerais (cinzas) (%)	Máx. 0,6	-
Condutividade elétrica ($mS.cm^{-1}$)	-	Máx. 0,8
Acidez livre ($mEq.Kg^{-1}$)	Máx. 50	Máx. 50
Atividade diastásica (°Gothe)	Mín. 8 na escala de Göthe; ou 3, se o HMF < 15mg/kg	Mín. 8 ou mín. 3, se o HMF < 15mg/kg
Hidroximetilfurfural (HMF) ($mg.Kg^{-1}$)	Máx. 60	Máx. 40; e em regiões tropicais: máx. 80

Fontes: BRASIL, 2000 e CODEX ALIMENTARIUS, 2001.

O teor de umidade depende das condições ambientais e manipulação por apicultores no período de safra, e pode variar de estação para estação e de ano para ano. Um teor elevado de umidade pode conduzir a fermentação indesejável no mel durante o armazenamento, causada pela ação de leveduras osmotolerantes, sobre os açúcares glicose e frutose, resultando na formação de álcool etílico e dióxido de carbono, onde o álcool, na presença de oxigênio, pode ser oxidado para ácido acético e água, resultando assim em um gosto amargo (HABIB et al., 2014).

Em relação aos açúcares, a glicose e a frutose são os principais constituintes do mel. A proporção desses açúcares depende em grande parte da fonte de néctar. É por isso que valores mínimos são estabelecidos, para atestar a qualidade e a pureza do mel. A razão frutose/glicose tem sido recomendada para avaliar a granulação do mel, porque a glicose é menos solúvel em água do que a frutose. O conteúdo de sacarose, por sua vez, é utilizado

para detectar adulteração no mel por adição de açúcares comerciais derivados da cana-de-açúcar e do milho. Outros açúcares são encontrados em quantidades mínimas, e atualmente estudos tem relatado que o perfil de açúcares pode estar associado a origem botânica e geográfica do mel (BOGDANOV, 2009; HABIB et al., 2014; SILVANO et al., 2014).

O conteúdo de sólidos insolúveis é um indicador de pureza e pode estar relacionado a falta de conhecimento em relação a extração de qualidade, processamento adequado e manejo de equipamentos devidamente higienizados. O componente insolúvel em água do mel inclui: cera, pólen, favo de mel, abelhas e partículas de sujeira (BELAY et al., 2013).

O teor de cinzas varia conforme fatores ambientais, geográficos e botânicos, os quais influenciam o conteúdo dos elementos inorgânicos no mel. Valores elevados podem indicar concentração de minerais encontrados no néctar, variabilidade no tipo de solo, práticas de colheita, e ainda materiais coletados pelas abelhas (BELAY et al., 2013; BOGDANOV, 2009).

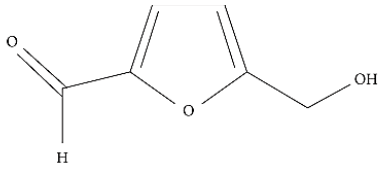
A condutividade elétrica no mel está relacionada com as concentrações de minerais e cinzas totais, sais, ácidos orgânicos e proteínas, e é um parâmetro que sofre variação de acordo com as condições ambientais e origem floral. É uma análise recomendada apenas pela norma internacional (BOUSSAID et al., 2014; CODEX, 2001).

O pH no mel, apesar de não ser um parâmetro obrigatório para a avaliação da qualidade do produto, é importante pelo fato de estar intimamente associado ao desenvolvimento de microrganismos. Alimentos com o pH superior a 4,5 podem desenvolver mais facilmente a multiplicação de microrganismos. Além disso, pode ser utilizada como análise complementar a acidez livre. A acidez livre do mel, além de conferir características químicas e sensoriais, está fortemente relacionada com a ocorrência de fermentação. A acidez do mel caracteriza-se principalmente pela presença de ácidos orgânicos, oriundos de diversas fontes de néctar, mas também por ação da enzima glicose-oxidase que origina o ácido glucônico (ácido com maior predominância no mel), e a ação de bactérias durante o processo de maturação do mel (FINOLA et al., 2007; FRANCO et al., 2008; SILVANO et al., 2014).

Em relação a atividade diastásica, é conhecido que o mel contém baixas concentrações de uma série de enzimas, das quais as mais importantes são a diastase, invertase (α-glicosidase), glicose-oxidase, catalase e fosfatase ácida. Estas enzimas são procedentes do néctar, dos fluidos salivares e das secreções das glândulas da faringe das abelhas. Diástases são um grupo de enzimas de digestão de amido que incluem α- e β-

amilase. A enzima α-amilase hidrolisa cadeias de amido em locais aleatórios, produzindo uma variedade de dextrinas, e a β-amilase separa o açúcar redutor maltose do final da cadeia de amido. A atividade diastásica é expressa em número de diastase (ND), correspondente a escala Gothe (° Gothe), que é definido como a atividade da enzima em 1 g de mel, capaz de hidrolisar 0,01 g de amido em uma hora a 40 °C. Um ND baixo indica que o mel foi exposto a altas temperaturas (SAKAC et al., 2012; SAK-BOSNAR et al., 2012).

O HMF (**Figura 2**) é um composto furânico que pode ser formado pela reação de Maillard ou por desidratação das hexoses em meio ácido. O tratamento térmico favorece a formação de HMF, mas esse composto também pode ser formado em baixas temperaturas durante longos períodos de armazenamento, porém em baixas concentrações, uma vez que a reação de Maillard diminui nessas condições. Além da temperatura, a formação do HMF depende do tipo de açúcar, pH e atividade de água.



5-hidroximetil-2-furaldeido
HMF

Figura 2. Estrutura química do HMF.

Estudos *in vitro* indicam que o HMF pode ser citotóxico, mutagênico, carcinogênico e genotóxico, e por isso a importância de monitorar as concentrações desse composto em alimentos, especialmente no mel. A presença de hexoses em meio ácido no mel favorece a formação de HMF. Portanto, o teor de HMF pode indicar o grau de frescor do mel, enquanto níveis elevados podem indicar ocorrência de armazenamento inadequado ou prolongado, superaquecimento ou adição de açúcar invertido (BASTOS et al., 2002; CAN et al., 2015; BILUCA et al., 2014).

1.1.3. Composição química e propriedades do mel

O mel é um produto alimentar natural, produzido em quase todos os países e largamente utilizado. É geralmente classificado em monofloral ou heterofloral. Méis monoflorais são produzidos por uma espécie de planta, que contém seu néctar predominante em relação as contribuições menores de néctar de outras origens botânicas. Méis heteroflorais apresentam várias fontes vegetais, das quais nenhuma é predominante.

O mel não pode ser considerado um alimento completo, mas oferece potencial como um suplemento dietético. O mel é uma solução supersaturada de açúcares, dos quais frutose (38%) e glicose (31%) são os principais constituintes, e em seguida a água com contribuição aproximada de 18%. Outros açúcares, proteínas, certas enzimas, carotenoides, compostos fenólicos, aminoácidos livres, ácidos orgânicos, produtos da reação de Maillard, vitaminas e minerais compõem a minoria entre os elementos presentes no mel (VILHENA; ALMEIDA-MURADIAN, 1999; DAS et al., 2015; MARCHINI et al., 2004; HABIB et al., 2014).

Apesar de ser conhecido principalmente por seu poder adoçante, o mel é um alimento de alta qualidade, rico em energia e inúmeras outras substâncias benéficas ao equilíbrio dos processos biológicos do corpo. É um alimento que apresenta propriedades benéficas e tem sido foco de estudos que visam demonstrar o seu potencial funcional (DAS et al., 2015; GASIC, et al., 2014).

Estudos demonstraram as propriedades funcionais em méis de diferentes origens botânicas e geográficas. Apesar da composição do mel disponível comercialmente variar muito em todo o mundo, essa propriedade tem sido atribuída principalmente a presença de polifenóis, isto é, flavonoides e ácidos fenólicos (GASIC, et al., 2014; SILVA et al., 2013a).

Os flavonoides e ácidos fenólicos, foram reconhecidos como os principais constituintes responsáveis por propriedades promotoras de saúde no mel. Estes fitoquímicos foram estudados quanto a sua atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antimutagênica, antitumoral, antioxidante, e muitos outros efeitos sobre a saúde humana. Sua identificação e quantificação são de grande interesse, pois além da contribuição significativa para a bioatividade geral do mel, podem ser utilizados para classificar os méis de acordo com sua origem botânica (KECKES et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2012).

1.2. Compostos bioativos fenólicos em alimentos

Há 400 milhões de anos atrás quando as plantas terrestres evoluíram, elas provavelmente produziram metabólitos secundários (MS) como um meio de defesa contra herbívoros, microrganismos e plantas concorrentes; como compostos de sinal para atrair animais polinizadores e animais de dispersão de sementes; e também como compostos antioxidantes, para proteção ultravioleta. Os MS são sintetizados durante a fotossíntese e, apesar de não estarem diretamente envolvidos nos processos de crescimento, desenvolvimento e reprodução, como os metabólitos primários, são importantes à

sobrevivência das plantas (**Figura 3**). São compostos biologicamente ativos, capazes de interferir a nível molecular no organismo, é por isso que nos últimos anos, uma atenção crescente tem sido dedicada a ação dos compostos presentes em alimentos de origem vegetal na manutenção da saúde humana (MARTINS et al., 2016; SILVA et al., 2010; WINK, 2016).

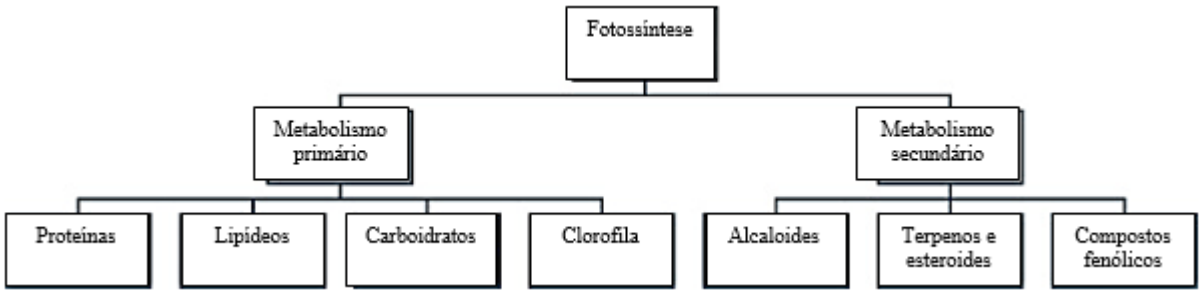
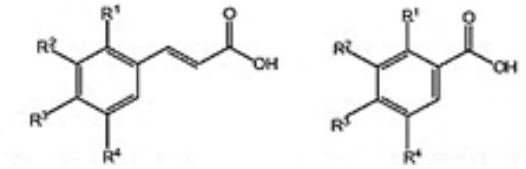


Figura 3. Relação entre os metabolismos primário e secundário em plantas (MARTINS et al., 2016, adaptado).

Os três grupos de agentes fitoquímicos mais importantes são os terpenos (várias unidades de isopreno), os alcaloides (compostos nitrogenados heterocíclicos) e os compostos fenólicos. Estes, também chamados polifenóis, compõem o maior grupo, com mais de 8.000 estruturas identificadas e largamente distribuídas. Esses compostos apresentam como modelo estrutural básico um grupo fenol, constituído por um anel aromático hidroxilado. No entanto, os polifenóis apresentam ampla diversidade estrutural, sendo agrupados em diferentes classes de acordo com sua estrutura química básica, entre elas: ácidos fenólicos e flavonoides. Os ácidos fenólicos constituem os ácidos hidroxibenzoicos e os ácidos hidroxicinâmicos (**Figura 4**). Os principais flavonoides apresentam seis subclasses: antocianidinas, flavonas, isoflavonas, flavonois, flavanonas e flavanóis (**Figura 5)** (MARTINS et al., 2016; LIU et al., 2015; SILVA et al., 2016).

Os ácidos fenólicos e flavonoides são os compostos fenólicos mais comuns e, geralmente, apresentam-se como conjugados solúveis em água (glicosídeos) e formas insolúveis. Na natureza, os ácidos fenólicos exibem principalmente formas insolúveis ou conjugadas, enquanto os flavonoides apresentam-se como glicosídeos com um ou múltiplos açúcares ligados através de um grupo OH (OH-glicosídeo) ou através de ligações carbono-carbono (C-glicosídeos). Os fenólicos conjugados insolúveis têm demonstrado uma capacidade antioxidante significativamente maior em comparação com os fenólicos conjugados livres e solúveis (ACOSTA-ESTRADA et al., 2014).



Substituição	Derivados do ácido hidroxicinâmico	Derivados do ácido hidroxibenzoico
R^1=OH	Acido *o*-cumárico	-
R^3=OH	Ácido *p*-cumárico	Ácido hidroxibenzoico
R^3= R^4=OH	Ácido cafeico	Ácido protocatecoico
R^2=OCH_3, R^3=OH	Ácido ferúlico	Ácido vanílico
R^2= R^3= R^4=OH	-	Ácido gálico
R^1= R^4=OH	-	Ácido gentísico
R^2= R^4=OCH_3, R^3=OH	Ácido sinápico	Ácido siringico

Figura 4. Modelo estrutural básico dos ácidos hidroxicinâmicos e ácidos hidroxibenzoicos (HELENO et al., 2015).

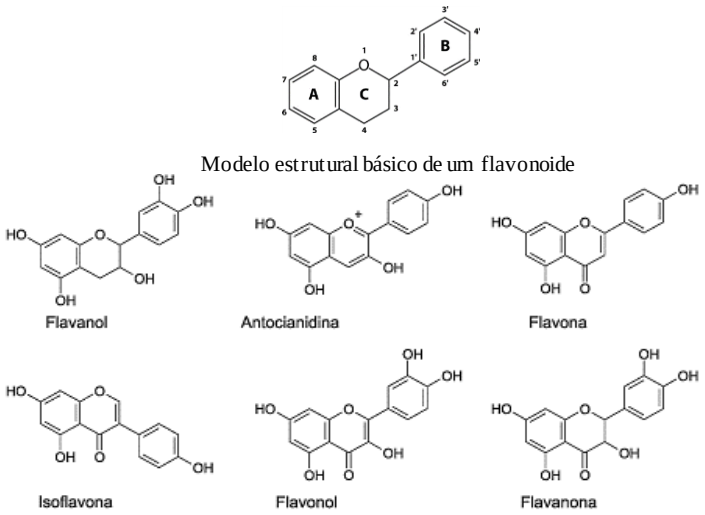


Figura 5. Estrutura química das principais classes de flavonoides (CERQUEIRA et al., 2007, adaptado).

A estrutura dos compostos fenólicos varia de uma simples molécula a um complexo polímero de elevado peso molecular. O potencial antioxidante desses compostos depende do número e disposição dos grupos hidroxilas na molécula de interesse (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Plantas superiores e os seus constituintes são fontes de antioxidantes naturais, tais como os polifenóis, que são encontrados em abundância em especiarias, ervas, frutas, legumes, cereais, grãos, sementes, chás e óleos. Esses compostos são parte essencial da dieta humana e são de considerável interesse, devido às suas propriedades antioxidantes e efeitos benéficos potenciais à saúde humana (AHMAD et al., 2016).

Os ácidos fenólicos e flavonoides são antioxidantes naturais, capazes de inibir ou reduzir a ação de radicais livres. Evidências indicam que os radicais livres implicam na patologia de diversas doenças humanas, uma vez que aumentam o estresse oxidativo e, potencialmente, podem danificar moléculas biológicas, tais como proteínas, hidratos de carbono, lipídios e DNA. Por essa razão, os compostos biologicamente ativos têm demonstrado efeitos positivos sobre doenças crônicas, tais como doenças cardiovasculares, câncer, obesidade e diabetes (ALVES et al., 2013; BORLINGHAUS et al., 2014; CAROCHO et al., 2013; FINOCCHIARO et al., 2010; IRONDI et al., 2015; KUMAR et al., 2013; SHAO et al., 2014; TAOFIQ et al., 2015).

1.3. Radicais livres e antioxidantes

Os radicais livres (RL) são moléculas instáveis e altamente reativas, que possuem um elétron não emparelhado em seu orbital. São conhecidos por desenvolverem um papel duplo, como espécie benéfica e deletéria. A produção contínua dos RL pelos sistemas enzimáticos é parte da função celular normal e, em níveis moderados, é essencial à saúde por estarem envolvidos em vários processos biológicos. O equilíbrio entre produção e remoção de RL é realizado pelo mecanismo de defesa do corpo, que garante as concentrações ideais. Quando há um desequilíbrio causado por produção excessiva de RL, de forma endógena (reações metabólicas) ou por fatores exógenos (radiações ionizantes, por exemplo), ocorre o estresse oxidativo, que está fortemente relacionado a uma ampla variedade de doenças humanas (FANG et al., 2002; FILIPOVIC et al., 2015).

As principais espécies reativas de interesse biológico, provenientes do metabolismo celular, compreendem as espécies reativas de oxigênio (ERO) e as espécies reativas de nitrogênio (ERN). Exemplos de ERO são superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxila ($^{\bullet}OH$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical peroxila ($ROO^{\bullet}$), hidroperóxido orgânico (ROOH), oxigênio singlete ($^1O_2$) e ozônio (O_3). Exemplos de ERN são óxido nítrico ($NO^{\bullet}$), peroxinitrito ($ONOO^-$), ácido peroxinitroso (ONOOH) e dióxido de nitrogênio (NO_2). Em níveis normais esses radicais contribuem para a homeostase celular. No entanto, se exibem níveis extremamente elevados, ocorre a saturação dos mecanismos de defesa celular (ação antioxidante) e moléculas intracelulares ficam seriamente danificadas, afetando células vizinhas, contribuindo assim para a indução de doenças crônico-degenerativas (DEVASAGAYAM et al., 2004; FANG et al., 2002; LABAT-ROBERT et al., 2014).

A proteção contra radicais livres pode ser aumentada pela ingestão de antioxidantes na dieta. Um antioxidante é uma substância que pode interferir em ciclos

oxidativos para inibir ou retardar danos oxidativos em biomoléculas. Essas substâncias podem interagir, com segurança, com radicais livres e terminam a reação em cadeia antes de danificar moléculas vitais, utilizando diversos mecanismos: (a) eliminação de espécies que iniciam a peroxidação, (b) quelação de metais para impedir a geração de espécies reativas ou decomposição de peróxidos, (c) interação com $\cdot O_2^-$ para a prevenção da formação de peróxidos, (d) interrupção da reação em cadeia auto-oxidativa, e/ou (e) redução de concentrações de O_2 localizadas (OROIAN et al., 2015; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

Esses compostos podem estar presentes naturalmente em plantas, animais e microrganismos ou podem ser sintetizados por meios químicos. Quando adicionados a alimentos, antioxidantes são capazes de prevenir a deterioração, retardar a formação de produtos de oxidação tóxicos, manter a qualidade nutricional do alimento e aumentar o prazo de validade dos produtos. Devido às preocupações de segurança e limitações sobre o uso de antioxidantes sintéticos, antioxidantes naturais obtidos a partir de materiais comestíveis, subprodutos comestíveis e fontes residuais têm demonstrado interesse crescente (EMBUSCADO, 2015; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

As principais classes de compostos naturais com atividade antioxidante são: vitaminas (C e E), carotenóides (carotenos e xantofilas) e polifenóis (flavonóides, ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos) (OROIAN et al., 2015; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; SINDHI et al., 2013).

O amplo interesse em relação aos antioxidantes, deve-se aos efeitos desses compostos sobre os radicais livres e consequentes benefícios que promovem ao organismo. Além disso, a falta de terapias eficazes para a maioria das doenças crônicas faz com que a utilidade de antioxidantes na proteção contra essas doenças seja cada vez mais estudada. Tais efeitos, em síntese, resultam do potencial de óxido-redução de determinados compostos; à capacidade de competição por sítios ativos e receptores nas múltiplas estruturas celulares; ou, ainda, à habilidade em modular a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em mecanismos intracelulares de defesa contra processos oxidativos degenerativos de estruturas celulares (DNA, membranas) (BASTOS et al., 2009; MARTINS et al., 2016).

1.4. Métodos para a avaliação da capacidade antioxidante

Em virtude da grande diversidade química existente entre os compostos antioxidantes, vários ensaios *in vitro* têm sido realizados para avaliar a capacidade antioxidante em amostras de interesse. Outra questão, é que os modelos de teste antioxidante

variam em diferentes aspectos, é por isso que a atividade antioxidante não deve ser mensurada com base em um único modelo de teste (ALAM et al., 2013; SCHAICH et al., 2015).

Dependendo das reações envolvidas, estes ensaios podem ser classificados em dois tipos: ensaios baseados em reações de transferência de átomos de hidrogênio (TAH) e ensaios baseados em transferência de elétrons (TE). A maioria dos ensaios baseados na TAH empregam um esquema de reação competitiva, em que antioxidante e substrato competem por radicais peroxil gerados termicamente, através da decomposição de azo compostos. Esse ensaio inclui o método de capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) e o potencial reativo antioxidante total (TRAP). Os ensaios baseados em TE mensuram a capacidade de um antioxidante na redução de um oxidante, que muda de cor quando reduzido. O grau de mudança da cor está correlacionado com a concentração de antioxidantes da amostra. Ensaios baseados em ET incluem o método do reagente Folin-Ciocalteu (FCR), a capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC), o poder antioxidante redutor do ferro (FRAP) e o sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (HUANG et al., 2005).

Entre os diversos métodos, ORAC, DPPH, FRAP e Folin-Ciocalteu são largamente utilizados na literatura científica para a análise da capacidade antioxidante em alimentos e bebidas, inclusive no mel (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2012).

O método ORAC verifica a capacidade antioxidante de uma amostra, a partir do monitoramento da inibição da oxidação induzida por radicais peroxil, gerados pelo 2,2′-azobis-(2-amidinopropano) dihidrocloreto (AAPH), à temperatura de 37°C. Radicais peroxil são radicais livres predominantes na oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos sob condições fisiológicas. Assim, valores de ORAC são biologicamente importantes, considerados como uma referência para a eficácia antioxidante. Nesse ensaio o radical peroxil reage com um composto fluorescente, resultando na perda da fluorescência, que é monitorada por um fluorímetro. Um conjunto de curvas de decaimento da fluorescência é construída e a área integrada entre presença de antioxidantes e ausência (corrida em branco) pode ser calculada como um indicador da capacidade de eliminação de radicais peroxil. O antioxidante padrão Trolox é usualmente utilizado como valor de referência, e os antioxidantes da amostra mencionados como equivalentes de Trolox. O ensaio é automatizado, utilizando um sistema multicanal de manuseio de líquidos, acoplado a um leitor de microplacas de fluorescência (SHAHIDI; ZHONG, 2015; ZULUETA et al., 2009).

Outra estratégia para determinar a atividade antioxidante é mensurar diretamente a habilidade de sequestrar radicais livres específicos, como acontece no método DPPH. O radical DPPH, é um radical livre estável, possui coloração púrpura e é caracterizado por uma banda de absorção a 517nm. Esse método mede a perda de absorção quando o radical é reduzido por ação de um antioxidante ou espécie radicalar, mudando a coloração para amarelo pálido. É um método amplamente utilizado para determinar a atividade antioxidante de compostos fenólicos purificados e extratos de plantas naturais. A simplicidade e a rapidez da análise deste método isento de substrato têm sido evidenciadas para uma vasta gama de compostos. No entanto, um dos maiores inconvenientes desse método é a utilização do DPPH à base de metanol no ensaio, ocasionando perda da contribuição de antioxidantes hidrofílicos, porque são precipitados pelo solvente (ALAM et al., 2013; LUCAS-ABELLAN et al., 2011; NICKLISCH et al., 2014).

O método FRAP, por sua vez, estima a capacidade dos antioxidantes em reduzir o íon férrico (Fe^{+3}) em íon ferroso (Fe^{+2}), em meio ácido (pH 3,6). A formação do complexo reduzido apresenta coloração azul intensa e o monitoramento da atividade redutora da amostra é medido a 593nm. Ao contrário dos outros métodos baseados em TE, o ensaio FRAP deve ser realizado sob condições com pH baixo, a fim de manter a solubilidade do íon e principalmente o direcionamento na transferência de elétrons (SHAHIDI; ZHONG, 2015).

O conteúdo de fenólicos totais (CFT) ou ensaio de Folin-Ciocalteu, é outro parâmetro importante da capacidade antioxidante. É um método bem conhecido e amplamente utilizado para a avaliação antioxidante de alimentos e extratos de plantas. O ensaio é baseado na redução do reagente Folin-Ciocalteu por compostos fenólicos sob condições alcalinas. Acredita-se que o reagente Folin-Ciocalteu contém complexos de ácidos fosfomolibdato-fosfotungstato que, quando reduzidos, exibem uma coloração azul com máxima absorção a 765 nm. É um método sensível ao pH, temperatura e tempo de reação, e apesar da preocupação em relação a contribuição de agentes redutores não-fenólicos presentes, como açucares redutores e certos aminoácidos, é um método simples, reprodutível e robusto (SHAHIDI; ZHONG, 2015).

É importante compreender os mecanismos, vantagens e limitações dos ensaios de capacidade antioxidante para uma seleção adequada dos métodos. Além disso, é considerável a realização adjacente de outros métodos que favoreçam o isolamento e a purificação dos compostos (OROIAN et al., 2015).

2. JUSTIFICATIVA

O mel é um alimento doce feito por abelhas a partir do néctar das flores. Muitos autores associam o mel como uma fonte de antioxidantes naturais. No entanto, sua composição é muito variável, pois depende da origem botânica e geográfica, da espécie de abelha e das condições ambientais do local onde é produzido.

A região Sul distingue-se das demais regiões brasileiras em função do seu clima e vegetação. Além disso, o somatório dos principais estados da região Sul representa 49 % da produção de mel no país, destacando-se o Rio Grande do Sul como o maior produtor. Estudo realizado recentemente, por Arruda (2013), demonstrou que outro produto da colmeia, o pólen apícola, produzido nessa mesma região, exibiu atividade antioxidante superior, quando comparado ao pólen apícola produzido nas demais regiões do Brasil.

Assim, baseado na busca por alimentos que, quando incluídos na dieta tornam-se aliados à saúde, verificou-se a oportunidade de investigar méis com possíveis efeitos benéficos; adicionado a isso, é relevante certificar a adequação de méis para o consumo humano, contribuindo assim para a segurança alimentar e nutricional, bem como para a valorização do produto local e consequente incentivo à produção e comercialização, repercutindo assim, de forma positiva, na sociedade cientifica, na economia e no meio ambiente.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O objetivo geral desse trabalho foi caracterizar os méis de *Apis mellifera*, produzidos no estado do Rio Grande do Sul, quanto as propriedades antioxidantes e físico-químicas.

3.2. Objetivos específicos

1. Determinar as características físico-químicas de méis de *Apis mellifera*, produzidos no estado do Rio Grande do Sul e verificar seu enquadramento nas especificações brasileira e internacional;
2. Avaliar a capacidade antioxidante dos méis por três métodos distintos: ORAC, FRAP e DPPH;
3. Determinar o teor de compostos fenólicos, por espectrofotometria e cromatografia líquida de alta eficiência;
4. Correlacionar as propriedades físico-químicas, atividade antioxidante e origem botânica encontradas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Os méis de abelhas *Apis mellifera* foram adquiridos diretamente da Casa do Mel, estabelecimento da Associação Gaúcha de Apicultures (AGA), em Viamão, RS.

Foram obtidos dois conjuntos de amostras, um no ano 2014 e outro em 2015, totalizando 52 amostras, com aproximadamente 300 g de mel cada, de diversas origens botânicas, e abrangência de coleta em diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, indicadas na **Figura 6** e descritas na **Tabela 3**.

As amostras foram transportadas em embalagens hermeticamente fechadas e, após o recebimento, foram mantidas a temperatura ambiente, em local seco e ao abrigo da luz.

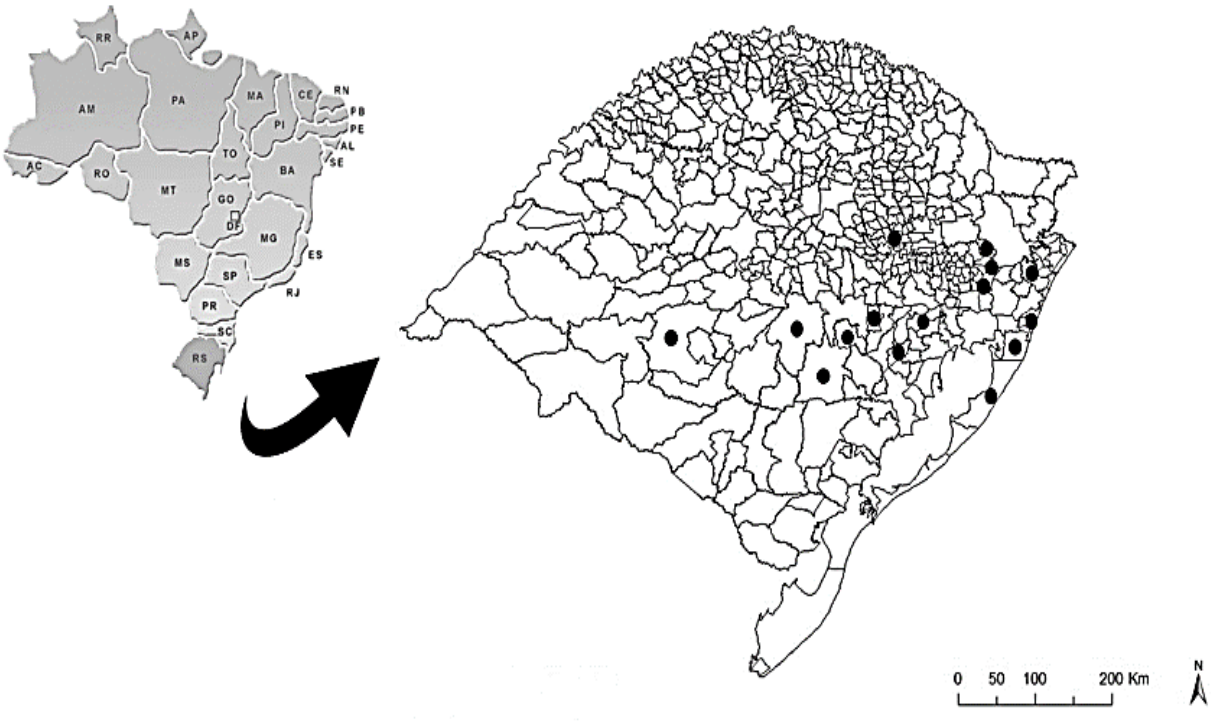


Figura 6. Mapa do estado do Rio Grande do Sul indicando as regiões onde as amostras foram coletadas.

Tabela 3. Identificação das amostras por local e período de coleta.

Amostra	Local de coleta	Mês/Ano da coleta
1	Eldorado do Sul/RS	03/2014
2	Eldorado do Sul/RS	03/2014
3	Eldorado do Sul/RS	04/2014
4	Eldorado do Sul/RS	04/2014
5	Eldorado do Sul/RS	04/2014
6	Eldorado do Sul/RS	04/2014
7	Eldorado do Sul/RS	02/2014
8	Eldorado do Sul/RS	04/2014
9	Eldorado do Sul/RS	04/2014
10	Eldorado do Sul/RS	04/2014
11	Mostardas/RS	03/2014
12	São Gabriel/RS	02/2014
13	Canela/RS	11/2014
14	Canela/RS	05/2014
15	Roca Sales/RS	04/2014
16	Tramandaí/RS	11/2014
17	Três Coroas/RS	11/2014
18	Pantano Grande/RS	10/2014
19	Taquara/RS	11/2014
20	Pantano Grande/RS	11/2014
21	Taquara/RS	12/2014
22	Cachoeira do Sul/RS	01/2014
23	Taquara/RS	12/2014
24	Palmares do Sul/RS	08/2014
25	Taquara/RS	11/2014
26	Taquara/RS	10/2014
27	Taquara/RS	11/2014
28	Palmares do Sul/RS	03/2014
29	Encruzilhada do Sul/RS	06/2014
30	Maquiné/RS	12/2014
31	São Gabriel/RS	08/2014
32	São Gabriel/RS	11/2014
33	Mostardas/RS	03/2015
34	São Gabriel/RS	02/2015
35	Mostardas/RS	03/2015
36	Roca Sales/RS	05/2015
37	Taquara/RS	03/2015
38	Tramandaí/RS	04/2015
39	Pantano Grande/RS	04/2015
40	Cachoeira do Sul/RS	04/2015
41	Palmares do Sul/RS	05/2015
42	Taquara/RS	02/2015
43	São Gabriel/RS	04/2015
44	São Gabriel/RS	04/2015
45	Barão triunfo/RS	04/2015
46	Eldorado do Sul/RS	04/2015
47	Eldorado do Sul/RS	04/2015
48	Barão triunfo/RS	04/2015
49	Barão triunfo/RS	04/2015
50	Eldorado do Sul/RS	04/2015
51	Eldorado do Sul/RS	04/2015
52	Minas do leão/RS	04/2015

4.2.Métodos

4.2.1. Análise melissopalinológica

A determinação da origem botânica foi realizada em parceria com o Laboratório de Apicultura (LABAPIS) do Departamento de fitossanidade da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A análise foi realizada de acordo com o método padronizado por Maurizio e Louveaux (1965).

Foram dissolvidos 10 g de mel em 20 mL de água. Após centrifugação, o sedimento foi incluído em gelatina glicerinada não corada e as lâminas vedadas com parafina. Foi realizada uma preparação microscópica com uma gota do sedimento e uma pequena porção de gelatina glicerinada, fixada e solidificada antes da observação. Os resultados foram interpretados pela dominância ou não dos tipos polínicos, levando-se em consideração a super ou sub-representação das espécies.

4.2.2. Determinação da umidade

A umidade foi determinada de acordo com o método refratométrico de Chataway, indicado por Cano et al. (2001), que compararam métodos para a determinação da umidade no mel, e recomendado pela AOAC (1990) e legislação brasileira (BRASIL, 2000). Para isso foi utilizado um refratômetro digital modelo DR_{201-95} da marca Kruss. O método consiste na determinação do índice de refração do mel a 20 °C, que é convertido para o conteúdo de umidade, em percentual, através de uma tabela de referência (Tabela de Chataway). As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.3. Determinação do resíduo mineral fixo (cinzas)

O resíduo mineral fixo foi determinado por gravimetria de acordo com o método descrito pela AOAC (1990) e legislação brasileira (BRASIL, 2000). As amostras foram previamente incineradas, em seguida foram levadas à mufla aquecida a 550° C por cinco horas (até peso constante). As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.4. Determinação da condutividade elétrica

A determinação da condutividade foi baseada no método preconizado pela IHC (2009), obtida a partir de uma solução de 20% de matéria seca de mel a 20ºC, utilizando-se um condutivímetro (CRISON INSTRUMENTS mod EC-Meter BASIC 30+). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em $mS.cm^{-1}$.

4.2.5. Determinação do potencial hidrogeniônico (pH) e acidez livre

A acidez livre dos méis foi verificada de acordo com AOAC (1990) e legislação brasileira (BRASIL, 2000). O valor do pH foi obtido utilizando-se um pHmetro digital (HANNA INSTRUMENTS) calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. Em seguida, a acidez livre foi avaliada, a partir de titulação simples com NaOH 0,05 M, interrompendo-se a titulação quando o pHmetro marcava o valor de 8,5. As análises foram realizadas em triplicata e a acidez livre expressa em $mEq.Kg^{-1}$ de mel.

4.2.6. Determinação da cor

A determinação da cor foi baseada no método descrito por Almeida-Muradian et al. (2014), utilizando-se um colorímetro (HANNA INSTRUMENTS mod. C221). Posteriormente, o valor encontrado foi convertido em cor pela escala de Pfund. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.7. Determinação da atividade diastásica

A determinação da atividade diastásica foi baseada no método de Schade modificado por White e Hadom, indicado pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) e internacional (CODEX, 2001), onde uma solução padrão de amido (8 $mg.mL^{-1}$) reage com uma solução de iodo 0,0007 M. Em função da concentração da enzima e do tempo, a intensidade da cor roxa varia, sendo verificada em intervalos de cinco minutos. Então, foi realizada uma plotagem da absorbância pelo tempo e, foi determinado o tempo em que o fator absorbância atingiu o valor de 0,235. O número de diastase (ND) foi calculado dividindo-se 300 pelo tempo encontrado, cujo valor mínimo deve corresponder a oito na escala de Gothe.

4.2.8. Determinação de açúcares

A determinação de açúcares foi realizada segundo Bogdanov et al. (1999) e IHC (2009), com modificações. Foi preparada uma solução de mel (0,05 $g.mL^{-1}$) com 25 % de metanol. A solução foi filtrada em membrana MILLIPORE de 0,45 µm. As amostras foram analisadas em CLAE utilizando-se coluna Zorbax NH_2 de fase normal (AGILENT, 250 mm de comprimento; 4,6 mm de diâmetro; e 5 µm de porosidade) e pré-coluna Zorbax NH_2 (AGILENT, 12,5 mm de comprimento; 4,6 mm de diâmetro; e 5 µm de porosidade), operado à temperatura de 37°C. A fase móvel foi composta por acetonitrila : água (80:20, v/v), e o fluxo utilizado foi do tipo isocrático a 1,3 ml/min, com volume de injeção de 10 µL. A curva

padrão foi obtida com padrões de Frutose, Glicose, Sacarose, Turanose, Maltose, Trealose, Gentiobiose, Erlose e Melezitose (Sigma aldrich). A detecção foi realizada por índice de refração. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em $g.100g^{-1}$ de mel.

4.2.9. Determinação do teor de hidroximetilfurfural (HMF)

A determinação do teor de HMF foi realizada segundo Ajlouni e Sujirapinyokul (2010). As amostras foram homogeneizadas com soluções de Carrez I a 15% e Carrez II a 30% na proporção de 1:100 cada. A solução foi filtrada em papel filtro de 80 mg/m² e os 10 mL iniciais foram descartados. Em seguida, a solução foi filtrada em membrana MILLIPORE de 0,22 µm. As amostras foram analisadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizando-se coluna C_{18} de fase reversa (PHENOMENEX, 250 mm de comprimento; 4,6 mm de diâmetro; e 5 µm de porosidade) e pré-coluna C_{18}, operado a temperatura de 30 °C. A fase móvel foi composta por A: água e B: metanol, na proporção 90:10 (v/v), e o fluxo utilizado foi do tipo isocrático a 0,75 mL/min, com volume de injeção de 20 µL. A curva padrão foi obtida com padrão de HMF (1-50 $mg.l^{-1}$). A detecção foi realizada com detector de ultravioleta a 285 nm. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em $mg.Kg^{-1}$ de mel.

4.2.10. Determinação qualitativa de HMF (Reação de Fiehe)

O teor qualitativo de HMF foi analisado a partir do método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005). O método consistiu na adição da solução clorídrica de resorcina (0,01 $g.mL^{-1}$) a amostra, e consequente observação da reação que resulta na alteração da coloração. O resultado é considerado positivo quando a coloração varia do rosa ao vermelho e negativo quando varia do amarelo ao incolor.

4.2.11. Determinação da presença de albuminoides (Reação de Lund)

A detecção de albuminoides no mel foi realizada de acordo com IAL (2005), através da formação de um precipitado de albuminoides, cujo volume deve variar de 0,6 a 3,0 mL. A reação foi obtida a partir da adição de ácido tânico a 0,5 %, seguida de repouso por 24 horas. Posteriormente, foi observada a formação do precipitado.

4.2.12. Determinação da capacidade redutora do Folin-Ciocalteu e teor de fenólicos totais

A determinação do teor de fenólicos totais foi realizada segundo Zhang et al. (2006). Foi utilizado espectrofotômetro Synergy H1 Multi-Mode Reader (Biotek instruments Inc., VT, USA) com microplaca de poliestireno com 96 poços e fundo transparente. Foram adicionados diretamente em cada poço 20 µL de solução aquosa de mel (0,2 $g.mL^{-1}$), em suas devidas diluições, e 100 µL do reagente Folin-Ciocalteu. Após cinco minutos de incubação foi adicionado 80 µL de carbonato de sódio a 7,5 % e a solução foi novamente incubada, por 30 minutos, à temperatura de 37 °C. A curva padrão foi elaborada com ácido gálico (Sigma-Adrich) (10,5-210 $\mu g.mL^{-1}$). As leituras foram realizadas a 760 nm, as análises realizadas em triplicata e a capacidade redutora do Folin-Ciocalteu foi expressa em mg equivalentes de ácido gálico (EAG).$100g^{-1}$ de mel.

4.2.13. Determinação do teor de flavonoides totais

A determinação do teor de flavonoides totais foi realizada segundo Xu e Chang (2007), com modificações. Foi utilizado espectrofotômetro Synergy H1 Multi-Mode Reader (Biotek instruments Inc., VT, USA) com microplaca de poliestireno com 96 poços e fundo transparente. Foram adicionados diretamente em cada poço 180 µL de solução aquosa de mel (0,2 $g.mL^{-1}$) e 15 µL de $NaNO_2$ 2,5 %. Após seis minutos foram adicionados 15 µL de $AlCl_3$ 10% e, depois de cinco minutos, foram adicionados 50 µL de NaOH 1M. Aguardou-se 10 minutos, tempo necessário para a formação do complexo flavonoide-alumínio, à temperatura ambiente. A curva padrão foi elaborada com quercetina (Sigma Chemical co.) (0,1-50 $\mu g.mL^{-1}$). As leituras foram realizadas a 415 nm, as análises realizadas em triplicata e os resultados expressos em mg equivalentes de quercetina (EQ).$100g^{-1}$ de mel.

4.2.14. Determinação da capacidade antioxidante

4.2.14.1. Capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC)

A capacidade de absorção de radicais de oxigênio foi determinada segundo Prior et al. (2003). Foi utilizado espectrofotômetro Synergy H1 Multi-Mode Reader (Biotek instruments Inc., VT, USA) com microplaca de poliestireno com 96 poços e fundo transparente. Nos poços foram adicionados 25 µL de solução de mel (0,05 $g.mL^{-1}$, com 25 % de metanol), devidamente diluída com tampão fosfato 75 mM (pH 7,1), 25 µL do controle e 25 µL da curva padrão de trolox (6-hidrox-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico) (Sigma Aldrich). A esse volume foram adicionados 150 µL de solução de fluoresceína 40

nM (Sigma Aldrich), seguido por incubação à 37 °C por 30 minutos. Na sequência foram misturados 25 µL da solução do radical peroxila 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidrocloreto (AAPH 153 nM) (Sigma Aldrich), desencadeando a reação. A reação foi monitorada a cada um minuto, por uma hora. A curva padrão de trolox foi realizada nas concentrações de 6,25 a 100 µM. A capacidade antioxidante foi determinada pela curva de redução da intensidade da fluoresceína com a concentração de equivalentes Trolox. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em mmol equivalentes Trolox (ET).Kg^{-1} de mel.

4.2.14.2. Sequestro do radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

A determinação da capacidade antioxidante pelo método DPPH foi realizada de acordo com Bobo-Garcia et al. (2015). Foi utilizado espectrofotômetro Synergy H1 Multi-Mode Reader (Biotek instruments Inc., VT, USA) com microplaca de poliestireno com 96 poços e fundo transparente. Foi preparada uma solução metanólica de DPPH (200 µM) a fim de exibir, aproximadamente, 0,9 de absorbância, no comprimento de onda de 517 nm. Na microplaca, foram adicionados 80 µL de controle e cinco diluições diferentes da solução aquosa de mel (0,2 $g.mL^{-1}$) com suas respectivas proporções de metanol 80% e água. Então, 160 µL da solução DPPH foi adicionada, seguindo para incubação por 1 hora e 30 minutos, à temperatura ambiente. Após o período de incubação foi efetuada a leitura a 517 nm. O resultado da atividade antioxidante foi expresso como a capacidade de sequestrar/reduzir o radical DPPH, em percentual (EC_{50}), ou seja, a quantidade de compostos antioxidantes necessários para reduzir em 50 % a concentração inicial do DPPH (BRAND-WILLIANS et al., 1995). As análises foram realizadas em triplicata, os resultados foram expressos em $mg.mL^{-1}$ de mel, e o percentual de descoloração foi calculado conforme a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de descoloração} = [1- (Abs_{amostra} - Abs_{branco}/Abs_{controle})] \times 100$$

4.2.14.3. Determinação do poder redutor do ferro – Método FRAP

A determinação do poder redutor do ferro foi obtida por meio do método descrito por Benzie e Strain (1996). Foi utilizado espectrofotômetro Synergy H1 Multi-Mode Reader (Biotek instruments Inc., VT, USA) com microplaca de poliestireno com 96 poços e fundo transparente. O reagente FRAP foi preparado com tampão acetato de sódio 300 mM pH 3,6, solução de 2,4,6-tripiridil-s-triazine (TPTZ) (Flucka Chemicals Siusse) 10 mM em ácido clorídrico (Synth) 40 mM e solução de cloreto férrico (Synth) 20 mM, na proporção 10:1:1. O reagente foi aquecido em banho-maria à 37 °C até o momento do uso.

Na microplaca foram adicionados 20 µL de solução de mel (0,2 $g.mL^{-1}$). Em seguida, foram adicionados, rapidamente, 150 µL de reagente FRAP aquecido em cada poço. Logo, iniciou-se o período de incubação por oito minutos, à mesma temperatura. Após esse período, foi realizada a leitura das absorbâncias a 593 nm. A curva padrão foi preparada com trolox (6-hidrox-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico) (Sigma Aldrich) na concentração de 25 a 800 µM. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em µmol equivalentes Trolox (ET).g^{-1} de mel.

4.2.15. Identificação e quantificação de compostos fenólicos

4.2.15.1. Preparação dos extratos

A preparação dos extratos para determinação dos compostos fenólicos foi realizada segundo Spiliot et al. (2014), com modificações. Foram adicionados 500 mg de mel a 500 µL de água em micro tubos (Axygen, MCT-200-C) e homogeneizados até completa dissolução. Alíquotas de 500 µL de n-Butanol P.A. (Sigma Aldrich-Vetec) foram adicionadas, seguidas de agitação e centrifugação (10.000 rpm; 10 minutos). O sobrenadante foi recolhido e reservado. Esse procedimento foi realizado três vezes. O volume aproximado de 1,5 mL de fase butanólica resultante foi submetido a evaporação em nitrogênio (Labconco, 7812010, Centrivap). Em sequência, foram adicionados 500 µL de acetato de etila P.A. (Synth), seguidos de agitação e retirada do sobrenadante. Este procedimento foi realizado três vezes. O volume total de sobrenadante resultante foi submetido a evaporação (Labconco, 7812010, Centrivap). Em seguida, as amostras foram ressuspendidas em 250 µL de solução de metanol e ácido fórmico 5 % (grau CLAE), na proporção 1:1, e filtradas em filtros de 0,45 µm. As análises foram realizadas em duplicata.

4.2.15.2. Cromatografia líquida de alta eficiência

A identificação e quantificação dos compostos fenólicos seguiu o modelo descrito por Spilioti et al. (2014), com modificações. A análise foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando-se coluna C_{18} de fase reversa (MERCK LICHROSPHER 100 RP 18E, 250 mm de comprimento; 4,6 mm de diâmetro; e 5 µm de porosidade) e pré-coluna Purospher RP-18E (4x4 mm; 5 µm), operada a temperatura de 25 °C. A fase móvel foi composta por A: água acidificada com ácido fórmico a 5 % e B: metanol, com fluxo de 0,8 mL/min. A fase móvel foi eluída em modo gradiente: 2 % de B em 0,01 min; 10 % de B em 3 min; 40 % de B em 30 min; 50 % de B em 44 min; 100 % de B em 53min; manteve-se 100 % de B (53-55 min) para limpeza da coluna; em seguida a

composição da fase móvel regressou às condições iniciais e manteve-se por 10 min para estabilização da coluna. O volume de injeção utilizado foi de 10 µL.

Os compostos fenólicos foram detectados por varredura entre 240 e 400 nm e quantificados conforme o comprimento de onda mais adequado para cada composto. Os padrões escolhidos (adquiridos da Sigma-Aldrich) foram: ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido para-hidroxibenzoico, catequina, ácido gentísico, ácido vanílico, ácido caféico, ácido clorogênico, epicatequina, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido benzoico, ácido sinápico, ácido *o*-cumárico, rutina, ácido rosmarínico, miricitina, ácido cinâmico, naringina, quercetina e campferol. Os polifenóis foram identificados através da comparação dos analitos com os respectivos tempos de retenção e espectros UV-VIS dos padrões. Foram geradas curvas de calibração a partir da mistura dos padrões utilizados. As áreas dos picos da curva foram utilizadas para obtenção da concentração de cada composto identificado nas amostras. Os resultados foram expressos em $\mu g.g^{-1}$ de mel.

4.3. Análise dos resultados

Para o tratamento estatístico dos dados foi utilizada a análise de variância (*one-way* ANOVA), seguida do pós-teste Tukey, utilizando o *software GraphPad Prism* 5.0. Para alguns dados, também foi realizada a análise de correlação de *Pearson* utilizando o mesmo *software*. Foi considerada uma escala de correlação de fraca a forte de acordo com Cohen (1988) apud Figueiredo-Filho e Silva-Junior (2009). Os dados foram expressos como média ± desvio padrão, com nível de significância de $p<0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise melissopalinológica

As amostras foram classificadas de acordo com sua origem botânica em seis tipos polínicos monoflorais: eucalipto, uva japão, aroeira, quitoco, flor do campo e laranjeira; e das 52 amostras analisadas seis classificaram-se como mel heterofloral, também chamado de silvestre. Os tipos polínicos identificados pela análise melissopalinológica estão apresentados na **Tabela 4**.

Tabela 4. Origem botânica identificada pela análise melissopalinológica nas amostras de méis.

Origem botânica	Total amostras	Amostras
Eucalipto (*Eucalyptus*)	*28*	3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 16, 18, 20, 22, 31, 32, 34, 38, 39, 40, 41, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51 e 52.
Uva japão (*Hovenia dulcis*)	*07*	17, 19, 21, 23, 30, 37 e 36.
Aroeira (*Schinus terebinthifolius*)	*05*	1, 2, 14, 15 e 27.
Quitoco (*Pluchea Sagittalis*)	*04*	11, 28, 33 e 35.
Flor do campo (*Gaya Macrantha*)	*01*	24.
Laranjeira (*Citrus sinensis*)	*01*	25.
Silvestre	*06*	7, 29, 26, 13, 42 e 44.
Total	***52***	

O clima e vegetação da região Sul distingue-se das demais regiões brasileiras, influenciando as espécies nectaríferas e poliníferas utilizadas pelas abelhas para a produção do mel. A florada predominante nessa região é a de eucalipto, seguida por aroeira, laranjeira, quitoco e uva japão. Em outras regiões do País, as floradas de eucalipto, aroeira e laranjeira são habitualmente encontradas, enquanto as de uva japão e quitoco são típicas das regiões Sul e Sudeste do Brasil. Esse estudo é pioneiro em analisar méis das espécies botânicas uva japão e quitoco.

5.2.Umidade

No mel, a água é o segundo maior componente, e seu conteúdo tem sido associado a origem botânica, ao grau de maturidade do mel atingido na colmeia, as técnicas de transformação e as condições de armazenamento (SILVA et al., 2016; SOUSA et al., 2016). A umidade nas amostras analisadas apresentou valores (%) que variaram de 16,4 a 19,4, com média de 18,3 ± 0,69 (**Tabela 5**). Esses dados demonstraram que os méis

analisados se enquadraram no padrão, correspondente ao máximo de 20 %, estabelecido pela legislação brasileira (2000) e Codex Alimentarius (2001).

Resultados semelhantes foram encontrados por Barth et al. (2005), onde avaliaram 31 méis provenientes do Sudeste brasileiro, e encontraram valores que variaram de 15 a 20%. Finco et al. (2010) avaliaram 24 amostras produzidas na região Norte do Brasil, e encontraram valores de umidade entre 18,9 a 21%. Sodré et al. (2007a) encontraram valores entre 15,8 e 20,8% para umidade em 20 amostras de mel analisadas no Nordeste brasileiro. Almeida-Muradian et al. (2014), também avaliaram méis da região nordeste e encontraram variação de 15,1 a 18,6%. Escuredo et al. (2013) verificaram o conteúdo de água em 187 amostras de mel produzidas na Espanha e os resultados variaram de 16,9 a 18,0%. Karabagias et al. (2014), por sua vez, analisaram a umidade em 36 amostras de mel provenientes da Grécia e encontraram valores entre 10,5 e 20,5%.

A variação encontrada nos diversos estudos que avaliaram a umidade do mel pode ser explicada porque o mel é um alimento higroscópico, absorve a umidade da atmosfera, e em regiões com elevada umidade relativa do ar, ou dependendo da época (estação chuvosa), a umidade pode aumentar; os estudos utilizaram diferentes espécies botânicas; além disso locais diferentes sugerem práticas e condições de manejo distintas.

No presente estudo, a partir da disposição das médias de umidade por origem botânica (**Tabela 6)**, foi possível verificar que a umidade dos méis de uva japão apresentou valor inferior em relação as demais espécies botânicas ($p<0,05$).

5.3. Resíduo mineral fixo (cinzas)

Os valores encontrados para cinzas nos méis analisados apresentaram variação de 0,0 a 0,7 % (**Tabela 5**). Uma amostra, apenas, apresentou valor acima do limite estabelecido pela legislação brasileira (máx. 0,6 %). O Codex Alimentarius (2001) não estabelece valor padrão para essa análise, visto que a análise de condutividade elétrica (parâmetro estabelecido por esse comitê), está relacionada com o conteúdo de cinzas no mel. Contudo, segundo Silva et al. (2016), estudos tem demonstrado que o teor de cinzas no mel varia entre 0,02 e 1,03 %.

Habib et al. (2014) avaliaram méis provenientes de regiões áridas e não-áridas e encontraram valores que variaram de 0,1 a 0,3 %. No Brasil, méis da região nordeste foram analisados, exibindo valores entre 0,0 e 0,4 % para cinzas (SODRÉ et al., 2007b).

Tabela 5. Propriedades físico-químicas dos méis analisados.

Amostras	Umidade (%)	Cinzas (%)	Condutiv. Elétrica ($mS.cm^{-1}$)	pH	Acidez ($mEq.K^{-1}$)	Cor	Atividade diastásica (°Gothe)	Açúcares ($g.100g^{-1}$)			HMF ($mg.Kg^{-1}$)
								Frutose	Glicose	Razão F/G	
1	18,9 ± 0,00	0,5 ± 0,00	0,79 ± 0,70	4,88 ± 0,00	27 ± 0,70	Âmbar claro	11,16 ± 0,00	39,42 ± 0,88	33,92 ± 0,23	1,2	5,42 ± 0,10
2	18,0 ± 0,00	0,7 ± 0,00	0,89 ± 0,00	4,95 ± 0,00	33 ± 0,80	Âmbar	11,06 ± 0,00	39,59 ± 0,29	30,67 ± 0,42	1,3	1,53 ± 0,00
3	18,0 ± 0,00	0,3 ± 0,00	0,48 ± 0,60	4,63 ± 0,00	21 ± 0,40	Âmbar claro	23,75 ± 0,00	39,02 ± 0,48	26,16 ± 0,61	1,5	2,50 ± 0,10
4	18,7 ± 0,00	0,3 ± 0,00	0,46 ± 0,70	4,25 ± 0,00	30 ± 0,80	Âmbar	15,17 ± 0,00	37,03 ± 0,12	28,17 ± 0,44	1,3	19,10 ± 0,20
5	18,6 ± 0,00	0,3 ± 0,10	0,68 ± 0,00	4,24 ± 0,00	42 ± 0,80	Âmbar claro	25,79 ± 0,00	38,69 ± 0,17	32,35 ± 0,54	1,2	12,65 ± 0,30
6	18,7 ± 0,00	0,3 ± 0,00	0,54 ± 0,00	4,52 ± 0,00	30 ± 0,60	Âmbar claro	23,32 ± 0,00	37,23 ± 0,06	33,59 ± 0,47	1,1	5,66 ± 0,10
7	19,0 ± 0,00	0,6 ± 0,00	0,75 ± 0,70	4,27 ± 0,00	37 ± 0,30	Âmbar	7,63 ± 0,00	37,80 ± 0,53	35,54 ± 1,01	1,1	6,26 ± 0,00
8	18,3 ± 0,00	0,6 ± 0,00	0,66 ± 0,60	4,27 ± 0,00	34 ± 0,80	Âmbar claro	12,12 ± 0,00	37,26 ± 0,49	33,76 ± 0,41	1,1	7,42 ± 0,10
9	17,0 ± 0,00	0,1 ± 0,10	0,31 ± 0,60	4,23 ± 0,00	17 ± 0,60	Âmbar extra claro	14,53 ± 0,00	37,47 ± 0,22	30,22 ± 0,59	1,2	0,60 ± 0,00
10	17,8 ± 0,00	0,5 ± 0,10	0,85 ± 0,70	4,26 ± 0,00	44 ± 0,70	Âmbar claro	17,11 ± 0,00	38,25 ± 0,17	32,43 ± 0,83	1,2	2,65 ± 0,10
11	18,5 ± 0,00	0,1 ± 0,00	NA	3,58 ± 0,20	40 ± 0,90	Branco	7,97 ± 0,00	35,95 ± 0,65	40,48 ± 0,82	0,9	9,91 ± 0,10
12	18,4 ± 0,00	0,6 ± 0,00	0,78 ± 0,60	4,29 ± 0,00	35 ± 0,70	Âmbar claro	27,18 ± 0,00	39,18 ± 0,54	33,17 ± 1,00	1,2	4,11 ± 0,00
13	18,7 ± 0,00	0,3 ± 0,10	0,40 ± 0,60	4,42 ± 0,00	31 ± 0,80	Âmbar claro	10,83 ± 0,00	37,93 ± 0,24	34,78 ± 0,45	1,1	1,62 ± 0,00
14	18,9 ± 0,00	0,5 ± 0,10	0,59 ± 0,70	4,22 ± 0,00	36 ± 0,80	Âmbar claro	23,55 ± 0,00	37,06 ± 0,21	30,04 ± 0,63	1,2	5,45 ± 0,10
15	19,4 ± 0,00	0,2 ± 0,10	0,64 ± 0,00	4,62 ± 0,00	23 ± 0,30	Âmbar claro	17,17 ± 0,00	36,54 ± 1,47	29,92 ± 1,42	1,2	1,10 ± 0,00
16	18,1 ± 0,00	0,5 ± 0,00	0,92 ± 0,70	4,50 ± 0,00	20 ± 0,60	Âmbar claro	26,79 ± 0,00	37,02 ± 0,29	34,75 ± 0,90	1,1	1,87 ± 0,10
17	17,4 ± 0,00	0,1 ± 0,00	0,53 ± 0,00	4,09 ± 0,00	27 ± 0,30	Âmbar extra claro	18,73 ± 0,00	37,93 ± 0,09	31,89 ± 1,11	1,2	4,19 ± 0,10
18	19,0 ± 0,00	0,6 ± 0,00	0,93 ± 0,00	4,25 ± 0,00	37 ± 0,30	Âmbar claro	16,44 ± 0,00	38,34 ± 0,42	32,39 ± 0,84	1,2	2,40 ± 0,10
19	18,3 ± 0,00	0,0 ± 0,00	NA	4,06 ± 0,00	15 ± 0,20	Branco	15,63 ± 0,00	37,37 ± 0,39	30,44 ± 0,87	1,2	1,28 ± 0,00
20	19,0 ± 0,00	0,6 ± 0,00	0,93 ± 0,00	4,26 ± 0,00	32 ± 0,50	Âmbar claro	16,36 ± 0,00	38,02 ± 0,41	32,86 ± 0,72	1,2	2,13 ± 0,20
21	18,1 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,36 ± 0,70	4,08 ± 0,10	12 ± 0,80	Branco	13,63 ± 0,00	36,45 ± 1,08	31,02 ± 0,94	1,2	0,66 ± 0,00
22	17,4 ± 0,00	0,4 ± 0,00	0,50 ± 0,60	4,16 ± 0,00	38 ± 0,50	Âmbar claro	57,07 ± 0,00	34,36 ± 0,37	38,13 ± 0,83	0,9	16,43 ± 0,30
23	17,0 ± 0,00	0,1 ± 0,00	0,36 ± 0,60	4,17 ± 0,10	10 ± 0,30	Branco	11,10 ± 0,00	37,42 ± 0,36	30,63 ± 0,18	1,2	0,61 ± 0,00
24	18,0 ± 0,00	0,3 ± 0,00	0,66 ± 0,00	3,83 ± 0,00	44 ± 0,60	Âmbar extra claro	9,17 ± 0,00	39,60 ± 0,07	32,33 ± 0,31	1,2	22,72 ± 0,20
25	18,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	NA	3,64 ± 0,00	21 ± 0,80	Extra branco	NA	41,70 ± 0,32	31,65 ± 0,98	1,3	4,91 ± 0,10
26	19,0 ± 0,00	0,4 ± 0,10	0,49 ± 0,70	4,30 ± 0,00	21 ± 0,50	Âmbar claro	15,97 ± 0,00	35,71 ± 0,14	27,27 ± 1,00	1,3	19,72 ± 0,10
27	19,0 ± 0,00	0,4 ± 0,00	0,58 ± 0,70	4,68 ± 0,00	17 ± 0,80	Âmbar claro	14,88 ± 0,00	36,83 ± 0,67	32,78 ± 0,32	1,1	1,19 ± 0,10
28	18,2 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,30 ± 0,00	3,60 ± 0,00	30 ± 0,80	Branco	13,28 ± 0,00	38,45 ± 0,22	35,42 ± 1,15	1,1	9,84 ± 0,10
29	16,4 ± 0,00	0,5 ± 0,00	0,58 ± 0,70	4,33 ± 0,00	31 ± 0,50	Âmbar	25,44 ± 0,00	34,48 ± 1,03	36,69 ± 1,35	0,9	17,92 ± 0,10

Amostras	Umidade (%)	Cinzas (%)	Condutiv. Elétrica ($mS.cm^{-1}$)	pH	Acidez ($mEq.Kg^{-1}$)	Cor	Atividade diastásica (°Gothe)	Açúcares ($g.100g^{-1}$)			HMF ($mg.Kg^{-1}$)
								Frutose	Glicose	Razão F/G	
30	16,7 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,27 ± 0,60	4,23 ± 0,10	10 ± 0,70	Branco	22,82 ± 0,00	37,20 ± 0,28	31,28 ± 0,64	1,2	0,47 ± 0,00
31	18,5 ± 0,00	0,4 ± 0,00	0,51 ± 0,00	4,06 ± 0,00	36 ± 0,90	Âmbar claro	11,65 ± 0,00	37,09 ± 0,17	34,20 ± 1,24	1,1	6,87 ± 0,10
32	18,2 ± 0,00	0,3 ± 0,10	0,42 ± 0,00	3,89 ± 0,00	26 ± 0,90	Âmbar claro	16,92 ± 0,00	38,77 ± 0,26	34,60 ± 0,52	1,1	17,06 ± 0,10
33	18,5 ± 0,00	0,1 ± 0,00	0,31 ± 0,00	3,70 ± 0,10	20 ± 0,60	Extra branco	07,15 ± 0,00	37,76 ± 0,63	32,70 ± 0,30	1,2	10,73 ± 0,50
34	19,2 ± 0,00	0,5 ± 0,30	0,57 ± 0,60	4,08 ± 0,00	23 ± 0,30	Âmbar extra claro	09,28 ± 0,00	37,52 ± 0,05	34,14 ± 0,31	1,1	7,24 ± 0,00
35	18,5 ± 0,00	0,1 ± 0,10	0,58 ± 0,60	4,65 ± 0,00	32 ± 0,30	Âmbar claro	16,10 ± 0,00	37,84 ± 0,14	32,21 ± 0,80	1,2	15,52 ± 0,10
36	17,4 ± 0,00	0,3 ± 0,00	0,78 ± 0,70	4,08 ± 0,00	33 ± 0,30	Âmbar claro	34,33 ± 0,00	38,21 ± 0,84	32,01 ± 0,30	1,2	9,68 ± 0,30
37	18,0 ± 0,00	0,3 ± 0,10	0,78 ± 0,60	3,77 ± 0,00	32 ± 0,60	Âmbar extra claro	26,18 ± 0,00	36,92 ± 0,28	31,09 ± 1,36	1,2	12,78 ± 0,40
38	17,6 ± 0,00	0,2 ± 0,00	0,52 ± 1,00	4,03 ± 0,00	42 ± 1,00	Âmbar extra claro	25,65 ± 0,00	39,41 ± 0,34	33,04 ± 0,51	1,2	11,78 ± 0,00
39	18,0 ± 0,00	0,3 ± 0,10	0,65 ± 0,00	4,13 ± 0,00	43 ± 0,80	Âmbar extra claro	14,64 ± 0,00	38,96 ± 0,63	35,49 ± 0,49	1,1	5,51 ± 0,10
40	18,5 ± 0,00	0,4 ± 0,00	0,61 ± 0,00	4,12 ± 0,00	41 ± 1,00	Âmbar extra claro	47,86 ± 0,00	39,63 ± 0,35	32,23 ± 0,57	1,2	4,46 ± 0,20
41	17,9 ± 0,00	0,5 ± 0,10	0,77 ± 0,00	4,17 ± 0,00	46 ± 0,70	Âmbar claro	32,52 ± 0,00	39,86 ± 0,30	34,77 ± 0,15	1,1	3,04 ± 0,10
42	16,5 ± 0,00	0,3 ± 0,00	0,59 ± 0,00	4,18 ± 0,00	37 ± 0,60	Âmbar extra claro	57,69 ± 0,00	37,90 ± 0,22	31,71 ± 0,79	1,2	10,97 ± 0,50
43	18,5 ± 0,00	0,1 ± 0,00	0,55 ± 0,00	4,16 ± 0,00	41 ± 0,50	Âmbar extra claro	19,23 ± 0,00	39,36 ± 0,27	34,47 ± 2,53	1,1	7,24 ± 0,10
44	18,5 ± 0,00	0,2 ± 0,10	0,59 ± 0,00	4,14 ± 0,00	32 ± 0,70	Âmbar extra claro	13,27 ± 0,00	37,60 ± 0,13	33,96 ± 0,76	1,1	12,75 ± 0,20
45	18,4 ± 0,00	0,4 ± 0,40	0,65 ± 0,70	4,14 ± 0,00	36 ± 0,80	Âmbar claro	14,83 ± 0,00	39,01 ± 0,76	34,75 ± 1,12	1,1	4,82 ± 0,40
46	18,7 ± 0,00	0,3 ± 0,10	0,64 ± 0,00	4,13 ± 0,00	40 ± 0,90	Âmbar	09,97 ± 0,00	38,30 ± 0,14	33,77 ± 1,42	1,1	10,68 ± 0,20
47	18,4 ± 0,00	0,3 ± 0,10	0,69 ± 0,00	4,11 ± 0,00	41 ± 0,30	Âmbar claro	09,21 ± 0,00	38,71 ± 0,35	33,26 ± 1,81	1,2	11,60 ± 0,20
48	17,6 ± 0,00	0,6 ± 0,10	0,68 ± 1,00	4,35 ± 0,00	40 ± 0,30	Âmbar claro	26,26 ± 0,00	39,07 ± 0,31	34,53 ± 1,27	1,1	7,69 ± 0,50
49	17,8 ± 0,00	0,5 ± 0,00	0,58 ± 0,70	4,06 ± 0,00	46 ± 1,00	Âmbar claro	16,85 ± 0,00	39,26 ± 0,20	34,06 ± 1,22	1,2	8,34 ± 0,80
50	17,6 ± 0,00	0,6 ± 0,10	0,54 ± 0,70	4,45 ± 0,00	22 ± 1,00	Âmbar extra claro	20,08 ± 0,00	37,84 ± 0,38	32,41 ± 0,26	1,2	1,80 ± 0,00
51	18,0 ± 0,00	0,6 ± 0,00	0,67 ± 0,60	4,36 ± 0,00	31 ± 0,30	Âmbar extra claro	16,48 ± 0,00	40,56 ± 0,71	32,62 ± 1,48	1,2	0,92 ± 0,00
52	17,2 ± 0,00	0,6 ± 0,00	0,67 ± 0,00	4,22 ± 0,00	44 ± 0,30	Âmbar claro	14,36 ± 0,00	39,47 ± 0,74	35,27 ± 1,05	1,1	3,19 ± 0,00
Média	18,3	0,3	0,59	4,18	32	-	16,36	37,93	32,82	1,2	5,59
DP	0,69	0,20	0,17	0,29	9,75	-	10,97	1,38	2,47	0,10	5,80
Variação	16,4 - 19,4	0,0 - 0,7	0,27 - 0,93	3,58 – 4,95	10 - 46	-	7,15 - 57,69	34,36 - 41,70	26,16 - 40,48	0,9 - 1,5	0,47 - 22,72
Brasil (2000)	<20	<0,6	-	-	<50	-	>8 ou 3	-	-	-	<60
Codex (2001)	<20	-	<0,8	-	<50	-	>8 ou 3	-	-	-	<40

NA = *não analisado*.

Tabela 6. Propriedades físico-químicas por origem botânica dos méis.

Origem botânica	Quant. amostral	Umidade (%)	Cinzas (%)	Condutiv. Elétrica ($mS.cm^{-1}$)	pH	Acidez ($mEq.K^{-1}$)	Atividade diastásica (°Gothe)	Açúcares ($g.100g^{-1}$)			HMF ($mg.Kg^{-1}$)
								Frutose	Glicose	Razão F/G	
Eucalipto	(28)										
Média		$18,3^{a}$	$0,4^{a}$	$0,65^{a}$	$4,23^{b}$	$36,5^{a}$	16,89	38,70	33,68	1,2	$5,59^{abc}$
DP		0,55	0,15	0,15	0,16	8,51	10,87	1,24	2,26	0,10	5,08
Variação		17,0 - 19,2	0,1 - 0,6	0,31 - 0,93	3,89 – 4,63	21 – 46	9,21 - 57,07	34,36 - 40,56	26,16 - 38,13	0,9 - 1,5	0,60 - 19,10
Uva japão	(7)										
Média		$17,4^{b}$	$0,1^{b}$	$0,44^{bc}$	$4,08^{b}$	$15,0^{b}$	18,73	37,70	31,09	1,2	$1,28^{b}$
DP		0,60	0,13	0,22	0,15	10,42	8,07	0,59	0,59	0,00	5,02
Variação		16,7 - 18,3	0,0 - 0,3	0,27 - 0,78	3,77 – 4,23	10 – 33	11,10 - 34,33	36,45 - 38,21	30,63 - 32,01	1,2, - 1,2	0,47 - 12,78
Aroeira	(5)										
Média		$18,9^{a}$	$0,5^{a}$	$0,64^{ab}$	$4,68^{a}$	$27,0^{ab}$	14,88	37,06	30,67	1,2	$1,53^{bc}$
DP		0,51	0,18	0,13	0,29	7,63	5,16	1,49	1,79	0,07	2,29
Variação		18,0 - 19,4	0,2 - 0,7	0,58 - 0,89	4,22 – 4,95	17 – 36	11,06 - 23,55	36,54 - 39,59	29,92 - 33,92	1,1 - 1,3	1,10 - 5,45
Quitoco	(4)										
Média		$18,5^{ab}$	$0,1^{bc}$	$0,31^{c}$	$3,63^{c}$	$31,0^{a}$	10,63	37,80	34,06	1,2	$10,32^{ac}$
DP		0,15	0,05	0,16	0,05	8,23	4,29	1,08	3,79	0,14	2,71
Variação		18,2 - 18,5	0,0 - 0,1	0,30 - 0,58	3,58 – 3,70	20 – 40	7,15 - 16,10	35,95 - 38,45	32,21 - 40,48	0,9 - 1,2	9,84 - 15,52
Flor do campo*	(1)										
Média		18,0	0,3	0,66	3,83	44,0	9,17	39,60	32,33	1,2	22,72
DP		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Variação		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laranjeira*	(1)										
Média		18,0	0,0	NA	3,64	21,0	NA	41,70	31,65	1,3	4,91
DP		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Variação		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Silvestre	(6)										
Média		$18,6^{a}$	$0,4^{ac}$	$0,58^{abc}$	$4,29^{b}$	$31,5^{a}$	14,62	37,70	34,37	1,1	$11,86^{a}$
DP		1,23	0,15	0,12	0,10	5,86	18,60	1,46	3,41	0,13	6,87
Variação		16,4 - 19,0	0,2 - 0,6	0,40 - 0,75	4,14 – 4,42	21 – 37	7,63 - 57,69	34,48 - 37,93	27,27 - 36,69	0,9 - 1,3	1,62 - 19,72

NA = não analisado.
* não foi incluído na análise estatística.
Letras diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes entre si ($p<0,05$).

Resultados similares foram encontrados por Marchini et al. (2004), que em 21 amostras de mel da região norte do Brasil encontraram o teor de cinzas variando entre 0,1 a 0,6 %. Estudo realizado por Felsner et al. (2004), avaliou o teor de cinzas em méis de eucalipto e laranjeira, relatando resultados semelhantes ao encontrado no presente estudo, onde o mel de eucalipto apresentou maior teor de cinzas quando comparado ao mel de laranjeira.

Observa-se na **Tabela 6** que os tipos polínicos que apresentaram menores médias para o conteúdo de cinzas foram quitoco e uva japão, com 0,1 %. O conteúdo de cinzas no mel avalia o teor de minerais presente no mel, está diretamente relacionado aos aspectos ambientais, botânicos e geográficos (depende do tipo de solo utilizado para as flores em que o néctar foi recolhido) (KARABAGIAS et al., 2014).

De acordo com Silva et al. (2016), o conteúdo de cinzas pode também ser utilizado para avaliar o valor nutricional de méis. A maior contribuição do conteúdo mineral é o potássio, entre 200 e 900 ppm, seguido por outros minerais em quantidades inferiores. Eles analisaram o mel adulterado com glicose e compararam com o mel puro, encontrando o teor de potássio inferior a 200 ppm no adulterado. Dessa forma, a determinação do teor de potássio, combinada a outras técnicas, pode ser útil na verificação da autenticidade do mel.

5.4. Condutividade elétrica

A condutividade elétrica no mel está relacionada ao conteúdo de cinzas e acidez, revelando a presença de íons, ácidos orgânicos e proteínas (YUCEL et al., 2013)

Os resultados para a condutividade elétrica nas amostras analisadas variaram de 0,27 a 0,93 $mS.cm^{-1}$ (**Tabela 5**). A legislação brasileira vigente (BRASIL, 2000), não indica valor limite para essa análise. Já a norma internacional (CODEX, 2001) estabelece o máximo de 0,8 $mS.cm^{-1}$. Considerando este limite, constata-se que 7,7 % das amostras analisadas encontram-se com o valor acima do preconizado.

Estudo realizado por Almeida-Muradian et al (2014) em méis do Nordeste brasileiro revelou resultados entre 0,25 e 0,67 $mS.cm^{-1}$ para a condutividade elétrica. Chakir et al. (2011), por sua vez, avaliaram amostras de méis de eucalipto e encontraram a condutividade elétrica entre 0,3 e 1,14 $mS.cm^{-1}$, resultado semelhante ao encontrado. Nesse mesmo estudo, eles avaliaram a condutividade em 11 espécies botânicas diferentes, encontrando grande variabilidade entre elas (0,1 a 1,74 $mS.cm^{-1}$).

No presente trabalho observa-se que os méis de quitoco e uva japão apresentaram as menores médias para a condutividade em relação as demais espécies

botânicas (**Tabela 6**). Esse resultado corrobora com os dados encontrados na análise de cinzas, e com a premissa de que a espécie botânica tem forte influência na determinação da condutividade elétrica do mel.

5.5. pH e acidez livre

O pH no mel influencia a textura, a estabilidade e a vida de prateleira (BOUSSAID et al., 2014). Como mostrado na **Tabela 5**, os resultados encontrados para o pH dos méis analisados variaram de 3,58 a 4,95, com média de 4,18 ± 0,29, demonstrando que todos os méis analisados possuem caráter ácido.

Resultados similares foram demonstrados por Chakir et al. (2011), onde os valores de pH variaram de 3,52 a 5,13. Kirs et al. (2011), por sua vez, apresentaram 3,8 como valor médio para o pH. Marchini et al. (2004) avaliaram o pH de méis produzidos no Brasil e encontraram valores de pH entre 3,26 e 4,31.

Estudos relatam que a origem botânica pode influenciar no valor de pH do mel. Nesse estudo, na **Tabela 6,** observa-se que os méis de aroeira apresentaram maior média de pH, representando diferença significativa em relação as demais espécies ($p<0,05$). Já os méis da espécie quitoco exibiram menor valor de pH, sendo significativamente diferente das demais espécies botânicas avaliadas ($p<0,05$).

Não existe indicação na legislação referente ao valor ideal de pH no mel. No entanto, no geral, um valor baixo de pH, como o observado nos méis avaliados, contribui para a inibição no crescimento e proliferação de microrganismos.

A acidez no mel é devido à presença de ácidos orgânicos, principalmente o ácido glucônico (produzido pela ação da enzima glicose-oxidase sobre a glicose), em equilíbrio com as suas correspondentes lactonas ou ésteres internos, e íons inorgânicos, tais como fosfato, sulfato e cloreto. A acidez total no mel corresponde a soma da acidez livre e da acidez lactônica. A acidez lactônica é considerada como uma reserva de acidez quando o mel se torna alcalino. Já a acidez livre é um indicativo da fermentação dos açúcares em ácidos orgânicos (HABIB et al., 2014; KIRS et al., 2011).

Os resultados dos méis analisados para a acidez livre apresentaram valores entre 10 a 46, com média de 32 ± 9,75 (**Tabela 5**), atendendo às normas brasileira (BRASIL, 2000) e internacional (CODEX, 2001) (máximo permitido: 50 $mEq.Kg^{-1}$), demonstrando a ausência de fermentação indesejável.

Esses valores foram semelhantes aos anteriormente encontrado por Almeida-Muradian et al. (2014), onde a acidez de méis produzidos no Nordeste brasileiro variou de

8,34 a 29,60 mEq.Kg^{-1}. Estudo realizado em méis brasileiros de diferentes regiões demonstrou variação na acidez livre de 29,33 a 47,67 mEq.Kg^{-1} (MARCHINI et al., 2004). Chakir et al. (2011), por sua vez, apresentaram resultados para essa análise que variaram de 8,86 a 44,09 mEq.Kg^{-1}, em méis de diferentes origens botânicas.

A acidez do mel é influenciada pela fonte do néctar, pela produção de ácidos por bactérias durante a maturação e ainda pela quantidade de minerais presentes no mel. A **Tabela 6** demonstra que o mel de uva japão apresenta diferença significativa em relação as espécies eucalipto, aroeira e silvestre ($p<0,05$), provavelmente devido aos ácidos oriundos do néctar da planta quitoco.

Alguns estudos demonstram que existe correlação entre a condutividade elétrica do mel e o conteúdo de cinzas e a acidez. Nesse estudo, de acordo com a **Figura 7**, foi observado que houve forte correlação entre a condutividade elétrica e o conteúdo de cinzas (R^2=0,6916), e correlação moderada entre a condutividade elétrica e a acidez (R^2=0,4808). Essa correlação moderada pode ser explicada porque além do conteúdo de cinzas e acidez, a condutividade elétrica está relacionada com os sais minerais, além de proteína e outras substâncias presentes no mel, as quais dependem da fonte floral (FINCO et al., 2010).

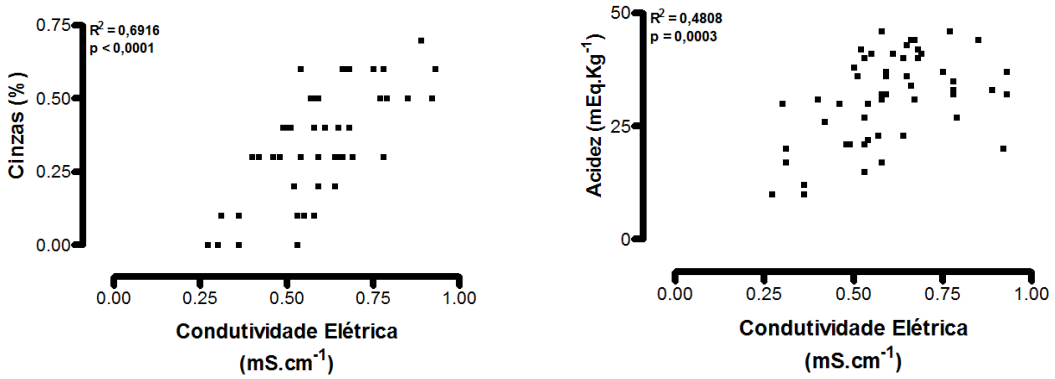


Figura 7. Correlação da condutividade elétrica com o conteúdo de cinzas e acidez dos méis.

5.6. Cor

É consenso que a cor do mel pode variar de claro a tons muito escuros de âmbar. Essa variação pode estar relacionada com a origem botânica, o grau de tratamentos térmicos e a ocorrência de alterações como a fermentação. Os méis monoflorais possuem características sensoriais distintas, é por isso que são mais valorizados no mercado. Em muitos países o preço do mel se correlaciona com sua cor. Geralmente os méis mais claros, são os mais procurados e, por conseguinte possuem preço mais alto. No entanto, algumas

regiões apreciam os méis de cor mais escura. Contudo, a aceitação geral da cor do mel pelos consumidores pode ser muito variável (TUBEROSO et al., 2014).

No presente estudo houve variação de cor do extra branco ao âmbar (**Figura 8**). Os méis de eucalipto variaram do âmbar extra claro ao âmbar; as amostras de uva japão do branco ao âmbar claro; silvestre do âmbar extra claro ao âmbar; aroeira do âmbar claro ao âmbar; quitoco do extra branco ao âmbar claro; flor do campo âmbar extra claro; e laranjeira extra branco. Esses resultados mostraram que os méis das espécies botânicas eucalipto, aroeira e silvestre apresentaram coloração predominantemente mais escura, quando comparados com os méis de flor do campo, uva japão, quitoco e laranjeira, os quais demonstraram leve coloração.

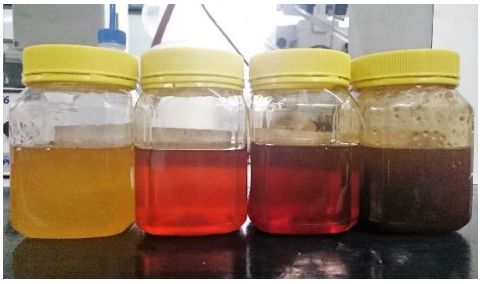


Figura 8. Variação de cor nos méis analisados.

Almeida-Muradian et al. (2014) avaliaram méis da região Nordeste do Brasil e encontraram resultados semelhantes, com variação do branco ao âmbar escuro. Tuberoso et al. (2014) afirmaram que existe correlação da cor com o teor de cinzas e condutividade elétrica do mel. Bertoncel et al. (2007), por sua vez, encontraram correlação entre a cor do mel e seu teor de fenólicos totais e atividade antioxidante, pelos métodos FRAP e DPPH.

5.7. Atividade diastásica

Os resultados encontrados para a atividade diastásica dos méis analisados exibiram valores entre 7,15 e 57,69 °Gothe, com média de 16,32 ± 10,97 (**Tabela 5**). Duas amostras apresentaram valores abaixo de 8 °Gothe, porém apresentaram o conteúdo de HMF inferior a 15 $mg.kg^{-1}$, sendo considerado nesse caso o limite de 3 °Gothe. Portanto, todas as amostras avaliadas se enquadraram dentro dos limites aceitáveis pelas legislações brasileira (BRASIL, 2000) e internacional (CODEX, 2001).

Estudo realizado por Chakir et al. (2011) apresentou valores entre 4,3 e 24,6 °Gothe. Enquanto Kirs et al. (2011), verificaram valores que variaram de 16,2 a 29,1 °Gothe.

Marchini et al. (2004), por sua vez, encontraram valores entre 11,51 a 44, 14 °Gothe, em 21 amostras de mel brasileiro, apresentando resultados similares ao presente estudo.

De acordo com a **Figura 6** não houve diferença estatística na atividade diastásica entre as diferentes origens botânicas ($p>0,05$); e os resultados apresentados certificam a pureza das amostras analisadas e indicam que o mel não foi exposto a altas temperaturas.

5.8. Açúcares

A glicose e a frutose são os principais açúcares do mel, com predomínio da frutose na maioria dos casos. Nessa análise foi possível quantificar somente os açúcares glicose e frutose, uma vez que os açúcares minoritários ficaram abaixo do limite de quantificação. Os méis investigados apresentaram médias de frutose e glicose de 37,93 ± 1,38 e 32,82 ± 2,47 $g.100g^{-1}$, respectivamente (**Tabela 5**). O somatório desses açúcares para cada amostra analisada foi adequado aos limites propostos pelas legislações brasileira (mínimo 65 $g.100g^{-1}$) e internacional (CODEX, 2001) (mínimo de 60 $g.100g^{-1}$). Resultados semelhantes foram descritos por Almeida-Muradian et al. (2014), em estudo com méis do Nordeste brasileiro. A **Figura 9** apresenta os cromatogramas obtidos para a mistura dos padrões e o resultado de uma das amostras.

Dentre as amostras, três apresentaram a glicose como o açúcar predominante. Estudos relataram que são poucos os tipos de mel, como os das espécies *Brassica napus* e o *Taraxacum officinale* (conhecido como dente de leão), que possuem a fração de glicose maior do que a de frutose (ESCUREDO et al., 2014). Em estudo, Kirs et al. (2011) encontraram méis com predominância de glicose e observaram que estes possuíam mais espectro de pólen da família botânica *Cruciferae*. Portanto a origem botânica pode influenciar a predominância dos açúcares no mel.

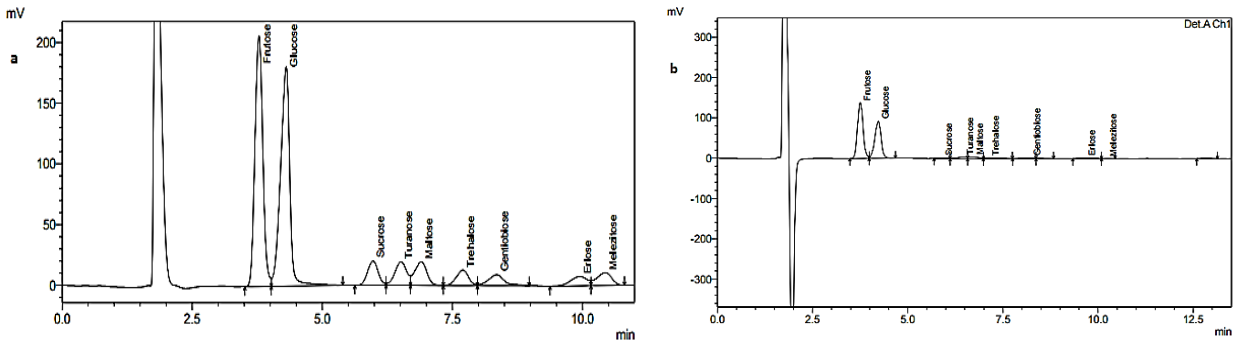


Figura 9. Cromatogramas dos açúcares a) mistura dos padrões b) amostra de mel.

Estudos enfatizam a influência dos açúcares na cristalização do mel. O tempo requerido para que ocorra esse processo depende principalmente da proporção de frutose para glicose (F/G), visto que a glicose é menos solúvel em água do que a frutose. Quando a proporção F/G for de 1,14 ou menos, indica uma cristalização mais rápida, enquanto que valores superiores a 1,58 são associadas com nenhuma tendência a cristalização, e valores superiores a 1,3 com uma cristalização mais lenta (ESCUREDO et al., 2014).

A razão F/G foi calculada para todas as amostras de mel e os resultados apresentaram variação de 0,9 a 1,5, com média de 1,2 ± 0,10 (**Tabela 5**), caracterizando as amostras analisadas com tendência a cristalizar lentamente.

5.9. Hidroximetilfurfural (HMF)

O HMF é um indicador de frescor do mel. Os resultados obtidos nesse estudo variaram de 0,47 a 22,72 $mg.kg^{-1}$, com média de 5,59 ± 5,80 $mg.kg^{-1}$, de acordo com a **Tabela 5**. Os cromatogramas do padrão e o resultado de uma das amostras estão apresentados na **Figura 10**. Os resultados encontrados para os méis corroboraram com os limites estabelecidos pelas normas brasileira (máximo de 60 $mg.kg^{-1}$) e internacional (CODEX, 2001) (máximo de 40 $mg.kg^{-1}$).

Almeida-Muradian et al. (2013) encontraram resultados para o HMF entre 10,32 e 12,27 $mg.kg^{-1}$, em 24 méis provenientes da região Nordeste do Brasil. Estudo realizado por Chakir et al. (2011), encontrou valores de HMF entre 0,09 e 53,38 $mg.kg^{-1}$. Boussaid et al. (2014) exibiram resultados que variaram de 12,07 a 27,43 $mg.kg^{-1}$, além de observarem que o conteúdo de HMF foi mais elevado para os méis da espécie botânica eucalipto (BOUSSAID et al., 2014).

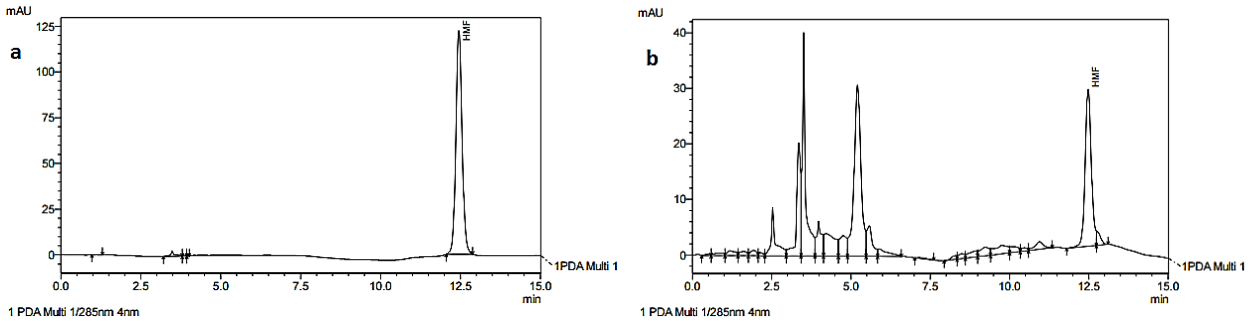


Figura 10. Cromatogramas obtidos na análise de HMF a) Padrão b) Amostra de mel.

No presente estudo, de acordo com a **tabela 6**, foi possível observar que houve diferença estatística entre os méis de diferentes origens botânicas, porém os méis que apresentaram maior média do conteúdo de HMF foram quitoco e silvestre.

Os resultados apresentados indicam que não houve superaquecimento ou condições de armazenamento inadequadas nos méis e que a origem botânica pode influenciar o teor de HMF no mel.

5.10. Reação de Fiehe

A reação qualitativa de Fiehe indica a ocorrência de superaquecimento do mel ou adulteração por adição de xaropes. Todas as amostras analisadas apresentaram resultado negativo, apoiando a informação acerca da autenticidade dos méis avaliados.

Para a legislação vigente essa não é uma análise obrigatória, mas o Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005) recomenda sua realização. Estudo com amostras de méis com própolis comercializadas no estado de São Paulo apresentou resultados semelhantes (BERA; ALMEIDA-MURADIAN, 2007). Bem como o apresentado no estudo realizado por Almeida-Muradian et al. (2013), em méis de *Apis mellifera* e *Melipona subnitida*, produzidos no estado da Bahia.

5.11. Reação de Lund

A Reação de Lund é de caráter qualitativo e indica a presença de albuminoides, substâncias naturalmente presentes no mel. Esta reação indica a diluição do mel ou perdas durante o processamento, se o volume do precipitado for inferior a 0,6mL; ou a adição de substâncias proteicas, quando o volume excede 3mL. Todas as amostras analisadas apresentaram resultado positivo para a presença em níveis desejáveis de albuminoides.

O IAL (2005) recomenda essa análise, apesar de não ser um parâmetro obrigatório nas normas brasileira e internacional. Estudos realizados com méis brasileiros apresentaram resultados semelhantes ao encontrado nesse estudo (ARAÚJO et al., 2006; BERA; ALMEIDA-MURADIAN, 2007).

5.12. Capacidade redutora do Folin-Ciocalteu

Os valores obtidos para o conteúdo de fenólicos totais (CFT) nos méis variaram de 26,0 a 100,0, com média de 61,30 ± 18,29 $mgEAG.kg^{-1}$ de mel (**Tabela 7**).

Estudo realizado por Boussaid et al. (2014) em méis da Tunisia, demonstraram variação de 32,17 a 119,42 $mgEAG.100g^{-1}$, sendo o de eucalipto o mel que apresentou menor

CFT. CAN et al. (2015), por sua vez, encontraram resultados entre 16,02 e 120,04 mgEAG.100g^{-1}, para 13 variedades de méis monoflorais e sete heteroflorais. Almeida et al. (2016) avaliaram 15 amostras de méis provenientes da região Nordeste do Brasil e encontraram valores entre 27,0 e 92,7 mgEAG.100g^{-1} para o CFT. Estudo recente realizado por Bueno-Costa et al. (2016), avaliou 24 amostras de méis de eucalipto e silvestre do estado do Rio Grande do Sul, no Brasil, e demonstrou que os valores do CFT variaram de 11,37 a 54,01mgEAG.100g^{-1}.

No presente trabalho os méis de eucalipto, aroeira e silvestre apresentaram maior CFT ($p<0,05$) em relação a espécie uva japão.

5.13. Teor de flavonoides totais

Os resultados para o conteúdo total de flavonoides nos méis avaliados variaram de 0,00 a 2,60, com média de 0,70 ± 0,67 mgEQ.100g^{-1} de mel (**Tabela 7**).

Can et al. (2015) analisaram o conteúdo de flavonoides totais em méis monoflorais e heteroflorais variando entre 0,65 e 8,10 mgEQ.100g^{-1} de mel. Já o estudo realizado por Boussaid et al. (2014) demonstrou valores de 9,58 a 22,45 mgEQ.kg^{-1}, apresentando maior conteúdo para os méis de menta e menor conteúdo para os méis de eucalipto. No Brasil, estudo realizado na região Sul apresentou valores de 2,97 a 10,46 mgEQ.100g^{-1} (BUENO-COSTA et al., 2016). Enquanto o trabalho realizado por Kadri et al. (2016), em méis de café da região Sudeste do país, exibiu valores menores, entre 3,30 e 3,63 mgEQ.kg-1. Lianda et al. (2012), por sua vez, estudaram méis de diferentes regiões dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro, encontrando valores entre 0,00 e 4,27 mgEQ.100g^{-1} de mel.

Observa-se que os resultados encontrados nesse estudo estão em concordância com os resultados encontrados em outros estudos. Na **Figura 11** nota-se que o conteúdo de flavonoides totais da origem botânica aroeira foi maior e significativamente diferente do mel de eucalipto ($p<0,05$). Curiosamente, o conteúdo de fenólicos totais entre as espécies eucalipto e aroeira não apresentou diferença significativa ($p>0,05$). Esse resultado sugere que, em relação aos compostos fenólicos, os flavonoides contribuem majoritariamente para a capacidade antioxidante nos méis de aroeira, enquanto a capacidade antioxidante dos méis de eucalipto pode estar relacionada a presença de outros compostos fenólicos.

5.14. Capacidade antioxidante nos méis

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada a partir de três métodos distintos: ORAC, DPPH e FRAP. Os resultados estão apresentados na **Tabela 7**.

5.14.1. Capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC)

Os resultados obtidos pelo método ORAC variaram de 1,28 a 18,48 mmolET.Kg^{-1} de mel. Em relação a origem botânica, os valores de ORAC para os méis de eucalipto e aroeira foram maiores e significativamente diferentes dos méis de uva japão ($p<0,05$), apresentando melhor capacidade antioxidante (**Figura 11**).

Gorjanovic et al. (2013) encontraram resultados semelhantes, entre 3,7 e 12,9 µmolET.g^{-1} de mel, em sete amostras de méis monoflorais e heteroflorais. Beretta et al. (2005) avaliaram 14 amostras de méis comerciais de diversas origens botânica e geográfica, exibindo resultados que variaram de 1,40 a 21,07 µmolET.g^{-1}. Estudo realizado em méis africanos apresentou resultados com ampla variação, entre 3,71 a 49,26 µmolET. g^{-1} (SEREM et al., 2012). Enquanto Brudzynski et al. (2011) apresentaram valores entre 1,99 e 19,77 µmolET.g^{-1} em amostras de méis do Canadá.

Os resultados encontrados pelo método ORAC no presente estudo estão em conformidade com os resultados encontrados na literatura científica.

5.14.2. Sequestro do radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

Os resultados encontrados nesse estudo variaram de 25,45 a 294,26 com média de 72,41 ± 89,81 mg.mL^{-1} de mel.

Can et al. (2015) encontraram valores entre 12,56 e 152,40 mg.mL^{-1} em méis monoflorais e heteroflorais. No Brasil, estudo realizado com méis produzidos na região Norte encontrou valores de 9,13 a 41,76 mg.mL^{-1}; méis produzidos na região Sudeste foram analisados por Estevinho (2008), exibindo valor médio de 68 mg.mL^{-1} para méis escuros.

Boussaid et al. (2014) analisaram seis amostras de méis de diferentes origens botânicas (alecrim, melissa, laranja, tomilho, eucalipto e hortelã) e encontraram valores entre 11,08 e 93,26 mg.mL^{-1}. Nesse mesmo estudo, os autores observaram que a atividade de eliminação de radicais DPPH do mel de hortelã foi significativamente ($p<0,05$) maior do que todas as outras amostras de mel, enquanto o mel de eucalipto apresentou menor atividade.

No presente estudo, de acordo com a **Figura 11**, a atividade de eliminação de radicais DPPH dos méis de eucalipto e aroeira foi significativamente ($p<0,05$) maior em relação as demais espécies botânicas analisadas.

5.14.3. Poder redutor do ferro – Método FRAP

Os resultados obtidos pelo método FRAP variaram de 0,22 a 2,11, com média de 1,21 ± 0,56 $\mu molET.g^{-1}$ de mel.

Resultados semelhantes foram obtidos por Can et al. (2015), onde o valor para FRAP variou de 0,64 a 4,30 $\mu molET.g^{-1}$ de mel. Habib et al. (2014) avaliaram méis monoflorais e heteroflorais, de regiões áridas e não áridas e encontraram valor máximo de 1,2 $\mu molET.g^{-1}$ de mel para esse ensaio. Enquanto Gorjanovic et al. (2013) encontraram valores que variaram de 0,04 a 4,98 $\mu molET.g^{-1}$ de mel.

Foi observada diferença significativa ($p<0,05$) para o valor de FRAP nas diferentes espécies botânicas, onde eucalipto, silvestre e aroeira apresentaram maiores resultados quando comparados com a espécie uva japão.

Tabela 7. Capacidade antioxidante e compostos fenólicos dos méis agrupados por origem botânica.

Amostra	Origem botânica	ORAC (mmolET.Kg-1)	DPPH (EC_{50} mg.ml-1)	FRAP (µmolET.g^{-1})	Folin-Ciocalteu (mgEAG.Kg-1)	Flavonoides totais (mgQE.100g-1)	Identificação e quantificação de compostos fenólicos (µg.g^{-1})				
							Ácido gálico	Ácido *p*-cumárico	Ácido cinâmico	Miricetina	Quercetina
22	*Eucalipto*	6,24 ± 0,22	77,51 ± 28,4	0,89 ± 0,04	60,20 ± 1,20	0,20 ± 0,00	12,34 ± 0,14	n.d.	6,02 ± 0,11	n.d.	0,63 ± 0,03
12	*Eucalipto*	9,85 ± 1,00	99,29 ± 29,6	1,29 ± 0,02	61,60 ± 1,20	0,50 ± 0,00	< LQ	n.d.	n.d.	n.d.	0,67 ± 0,64
3	*Eucalipto*	9,20 ± 0,27	96,18 ± 30,2	0,89 ± 0,14	57,20 ± 7,30	0,20 ± 0,00	< LQ	n.d.	1,05 ± 0,04	n.d.	0,49 ± 0,01
4	*Eucalipto*	11,40 ± 0,58	105,32 ± 28,6	1,24 ± 0,06	60,80 ± 5,10	1,40 ± 0,10	6,67 ± 2,36	n.d.	n.d.	n.d.	< LQ
5	*Eucalipto*	9,10 ± 1,35	72,72 ± 26,9	1,19 ± 0,04	69,30 ± 1,00	0,70 ± 0,00	9,78 ± 2,07	< LQ	n.d.	n.d.	< LQ
6	*Eucalipto*	6,47 ± 0,25	102,92 ± 30,3	0,86 ± 0,00	63,90 ± 0,40	0,00 ± 0,10	< LQ	n.d.	n.d.	n.d.	0,67 ± 0,03
8	*Eucalipto*	8,43 ± 0,20	62,15 ± 27,0	1,46 ± 0,04	65,80 ± 2,70	1,40 ± 0,00	48,52 ± 23,37	n.d.	n.d.	n.d.	0,81 ± 0,07
9	*Eucalipto*	5,42 ± 0,54	183,46 ± 37,2	0,40 ± 0,00	37,00 ± 1,80	0,10 ± 0,00	< LQ	1,22 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.
10	*Eucalipto*	18,48 ± 0,34	51,88 ± 25,4	1,76 ± 0,02	100,00 ± 2,70	1,40 ± 0,00	146,54 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	0,89 ± 0,58
31	*Eucalipto*	6,40 ± 0,09	81,24 ± 29,0	1,12 ± 0,01	65,00 ± 0,80	0,60 ± 0,00	n.d.	0,76 ± 0,01	n.d.	n.d.	n.d.
18	*Eucalipto*	15,55 ± 0,32	68,93 ± 24,2	2,00 ± 0,13	85,80 ± 5,50	1,30 ± 0,10	70,96 ± 0,00	1,39 ± 0,90	n.d.	n.d.	1,13 ± 0,72
16	*Eucalipto*	6,65 ± 0,24	102,88 ± 30,6	1,23 ± 0,04	61,00 ± 1,60	0,50 ± 0,00	10,98 ± 15,45	n.d.	n.d.	n.d.	0,86 ± 0,03
20	*Eucalipto*	15,38 ± 0,14	41,66 ± 26,5	1,93 ± 0,01	81,40 ± 0,90	1,10 ± 0,00	84,81 ± 13,53	2,06 ± 0,10	n.d.	n.d.	1,56 ± 0,04
32	*Eucalipto*	4,03 ± 0,14	99,98 ± 31,0	0,83 ± 0,04	55,30 ± 0,40	0,00 ± 0,00	n.d.	< LQ	n.d.	n.d.	< LQ
34	*Eucalipto*	3,41 ± 0,36	131,51 ± 31,3	0,57 ± 0,01	37,00 ± 0,40	0,20 ± 0,00	14,54 ± 12,23	n.d.	n.d.	n.d.	< LQ
38	*Eucalipto*	8,09 ± 0,38	70,95 ± 28,5	1,02 ± 0,04	66,60 ± 2,10	0,60 ± 0,00	15,25 ± 12,90	n.d.	n.d.	n.d.	< LQ
39	*Eucalipto*	10,78 ± 0,25	41,57 ± 25,6	1,52 ± 0,15	68,70 ± 5,30	1,00 ± 0,10	118,12 ± 0,32	n.d.	n.d.	n.d.	1,30 ± 0,01
40	*Eucalipto*	6,00 ± 1,05	44,56 ± 25,9	1,48 ± 0,03	67,20 ± 0,40	0,90 ± 0,00	77,23 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	0,68 ± 0,35
43	*Eucalipto*	7,74 ± 0,12	68,02 ± 27,3	1,05 ± 0,03	54,20 ± 0,70	0,70 ± 0,00	< LQ	n.d.	n.d.	n.d.	< LQ
41	*Eucalipto*	10,10 ± 1,18	41,97 ± 27,6	1,70 ± 0,01	71,90 ± 0,70	1,30 ± 0,00	214,87 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	0,93 ± 0,58
45	*Eucalipto*	13,15 ± 0,18	56,22 ± 26,6	1,11 ± 0,05	68,90 ± 0,70	0,60 ± 0,00	196,95 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	1,11 ± 0,35
46	*Eucalipto*	18,02 ± 0,56	25,91 ± 21,6	1,84 ± 0,03	84,50 ± 0,70	1,20 ± 0,10	26,50 ± 5,77	< LQ	n.d.	2,74 ± 1,79	1,50 ± 0,45
47	*Eucalipto*	16,12 ± 0,25	25,45 ± 28,8	1,76 ± 0,00	84,60 ± 0,80	1,30 ± 0,10	40,53 ± 11,06	< LQ	n.d.	4,16 ± 0,94	1,64 ± 0,34
48	*Eucalipto*	6,37 ± 0,21	48,81 ± 26,2	1,53 ± 0,05	67,20 ± 2,20	0,70 ± 0,00	32,88 ± 17,19	n.d.	n.d.	n.d.	1,19 ± 0,46
49	*Eucalipto*	7,82 ± 1,27	55,11 ± 26,5	1,38 ± 0,02	66,30 ± 0,60	0,80 ± 0,00	134,08 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	0,83 ± 0,83
50	*Eucalipto*	8,73 ± 1,15	43,77 ± 25,9	1,72 ± 0,11	59,30 ± 1,40	1,30 ± 0,10	< LQ	n.d.	n.d.	n.d.	< LQ
51	*Eucalipto*	8,00 ± 0,15	32,20 ± 26,2	1,90 ± 0,01	78,90 ± 1,00	1,50 ± 0,00	156,11 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
52	*Eucalipto*	10,48 ± 0,60	38,50 ± 29,0	2,11 ± 0,01	107,10 ± 1,50	1,30 ± 0,00	361,81 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Média	***Eucalipto***	8,58	65,09	1,34	66,45	0,75	-	-	-	-	-
DP		4,1	35,5	0,4	15,4	0,5	-	-	-	-	-
Variação		3,41 – 18,48	25,45 – 105,32	0,40 – 2,11	37,0 – 100,0	0,00 – 1,5	-	-	-	-	-

Amostra	Origem botânica	ORAC (mmolET.Kg-1)	DPPH (EC_{50} mg.ml-1)	FRAP (µmolET.g-1)	Folin-Ciocalteu (mgEAG.Kg-1)	Flavonoides totais (mgQE.100g^{-1})	Identificação e quantificação de compostos fenólicos (µg.g^{-1})				
							Ácido gálico	Ácido *p*-cumárico	Ácido cinâmico	Miricetina	Quercetina
17	*Uva Japão*	3,84 ± 0,09	116,82 ± 32,09	0,81 ± 0,02	52,80 ± 0,40	0,20 ± 0,00	12,71 ± 0,00	0,49 ± 0,24	n.d.	n.d.	0,61 ± 0,12
19	*Uva Japão*	1,95 ± 0,10	179,12 ± 35,58	0,33 ± 0,00	30,50 ± 0,40	0,50 ± 0,10	< LQ	1,37 ± 0,10	n.d.	n.d.	n.d.
21	*Uva Japão*	1,49 ± 0,07	277,18 ± 39,80	0,28 ± 0,01	27,70 ± 1,30	0,10 ± 0,00	< LQ	0,91 ± 0,99	n.d.	n.d.	n.d.
23	*Uva Japão*	1,47 ± 0,15	266,11 ± 38,87	0,24 ± 0,00	26,00 ± 0,10	0,00 ± 0,00	< LQ	1,57 ± 0,02	n.d.	n.d.	n.d.
30	*Uva Japão*	1,60 ± 0,17	245,68 ± 38,58	0,24 ± 0,00	28,30 ± 0,10	0,00 ± 0,00	n.d.	1,56 ± 0,28	n.d.	n.d.	n.d.
37	*Uva Japão*	7,47 ± 0,39	49,32 ± 27,04	1,54 ± 0,03	53,40 ± 0,40	1,60 ± 0,10	< LQ	< LQ	n.d.	n.d.	< LQ
36	*Uva Japão*	7,88 ± 0,13	34,58 ± 25,79	1,56 ± 0,03	58,20 ± 0,50	1,50 ± 0,20	17,34 ± 8,10	n.d.	n.d.	n.d.	0,49 ± 0,11
Média	***Uva Japão***	1,95	179,12	0,33	30,5	0,2	-	-	-	-	-
DP		2,9	101,8	0,6	14,4	0,7	-	-	-	-	-
Variação		1,47 – 7,88	34,58 – 277,18	0,33 – 1,56	26,0 – 58,2	0,00 – 1,60	-	-	-	-	-
1	*Aroeira*	9,05 ± 0,53	72,10 ± 28,30	1,29 ± 0,03	62,90 ± 1,40	1,00 ± 0,10	70,28 ± 2,30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	*Aroeira*	17,94 ± 0,53	61,91 ± 27,24	2,08 ± 0,01	97,50 ± 0,60	2,10 ± 0,00	158,67 ± 29,31	n.d.	n.d.	n.d.	0,50 ± 0,06
15	*Aroeira*	8,51 ± 0,73	54,73 ± 26,49	1,87 ± 0,04	63,50 ± 0,90	2,60 ± 0,10	6,10 ± 0,00	< LQ	n.d.	n.d.	< LQ
14	*Aroeira*	8,27 ± 0,07	62,17 ± 26,22	1,78 ± 0,02	64,20 ± 1,30	2,10 ± 0,00	11,66 ± 0,94	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
27	*Aroeira*	5,08 ± 0,18	127,60 ± 32,90	0,71 ± 0,01	51,50 ± 1,30	0,00 ± 0,00	n.d.	n.d.	13,50 ± 0,40	n.d.	n.d.
Média	***Aroeira***	8,5	62,2	1,8	63,5	2,1	-	-	-	-	-
DP		4,8	29,7	0,5	17,3	1,1	-	-	-	-	-
Variação		5,08 – 17,94	54,73 – 127,60	0,71 – 2,08	51,5 – 97,5	0,00 – 2,60	-	-	-	-	-
11	*Quitoco*	5,05 ± 0,37	161,41 ± 29,67	0,39 ± 0,02	80,80 ± 0,60	0,00 ± 0,00	< LQ	n.d.	n.d.	n.d.	< LQ
28	*Quitoco*	3,40 ± 0,11	198,52 ± 38,02	0,35 ± 0,01	47,90 ± 0,90	0,00 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
33	*Quitoco*	3,73 ± 0,25	294,26 ± 56,91	0,22 ± 0,01	40,30 ± 0,70	0,00 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
35	*Quitoco*	6,50 ± 0,23	96,14 ± 28,31	0,87 ± 0,06	52,50 ± 2,80	1,10 ± 0,10	7,35 ± 4,28	< LQ	n.d.	n.d.	0,58 ± 0,00
Média	***Quitoco***	4,4	180,0	0,4	50,2	0,0	-	-	-	-	-
DP		1,4	82,8	0,3	17,7	0,6	-	-	-	-	-
Variação		3,40 – 6,50	96,14 – 294,26	0,22 – 0,87	40,3 – 80,8	0,00 – 1,10	-	-	-	-	-

Amostras	Origem botânica	ORAC (mmolET.Kg^{-1})	DPPH (EC50 mg.ml^{-1})	FRAP (µmolET.g^{-1})	Folin-Ciocalteu (mgEAG.Kg^{-1})	Flavonoides totais (mgQE.100g^{-1})	Identificação e quantificação de compostos fenólicos (µg.g^{-1})				
							Ácido gálico	Ácido *p*-cumárico	Ácido cinâmico	Miricetina	Quercetina
24	*Flor do campo*	6,04 ± 0,15	86,04 ± 29,75	0,97 ± 0,01	56,50 ± 1,10	0,40 ± 0,10	40,20 ± 3,38	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Média	***Flor do campo****	6,04	86,04	0,97	56,50	0,40	-	-	-	-	-
DP		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Variação		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	*Laranjeira*	1,28 ± 0,11	NA	0,24 ± 0,01	26,40 ± 0,20	0,00 ± 0,00	< LQ	< LQ	n.d.	n.d.	n.d.
Média	***Laranjeira****	1,28	NA	0,24	26,40	0,00	-	-	-	-	-
DP		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Variação		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	*Silvestre*	10,29 ± 0,14	53,75 ± 23,67	1,50 ± 0,00	70,40 ± 1,90	1,40 ± 0,10	55,00 ± 0,00	n.d.	n.d.	4,02 ± 1,81	2,03 ± 1,02
29	*Silvestre*	5,26 ± 0,13	106,10 ± 31,35	0,95 ± 0,02	58,80 ± 0,70	0,20 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
26	*Silvestre*	7,92 ± 0,06	59,09 ± 28,45	1,76 ± 0,03	67,50 ± 1,20	1,90 ± 0,00	< LQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
13	*Silvestre*	4,14 ± 0,29	111,90 ± 31,16	0,71 ± 0,01	40,00 ± 0,30	1,00 ± 0,10	11,48 ± 0,00	n.d.	3,40 ± 0,00	n.d.	n.d.
42	*Silvestre*	10,68 ± 0,04	48,28 ± 26,97	1,67 ± 0,03	59,70 ± 0,40	1,70 ± 0,00	25,53 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	0,53 ± 0,00
44	*Silvestre*	4,92 ± 0,08	139,07 ± 30,69	0,64 ± 0,06	39,80 ± 3,70	0,20 ± 0,00	< LQ	n.d.	n.d.	n.d.	< LQ
Média	***Silvestre***	6,6	82,6	1,2	59,3	1,2	-	-	-	-	-
DP		2,8	37,6	0,5	13,3	0,7	-	-	-	-	-
Variação		4,14 – 10,68	48,28 – 139,07	0,64 – 1,76	39,80 – 70,40	0,20 – 1,90	-	-	-	-	-
TOTAL							-	-	-	-	-
Média		7,78	72,41	1,21	61,30	0,70	-	-	-	-	-
DP		4,30	89,81	0,56	18,29	0,67	-	-	-	-	-
Variação		1,28 – 18,48	25,45 – 540,42	0,22 – 2,11	26,0 – 100,0	0,0 – 2,60	-	-	-	-	-

NA = não analisado.
n.d. = não detectado.
LD = limite de detecção.
< LQ = abaixo do limite de quantificação.
(*Ácido gálico*: LD 1,86 µg.g^{-1}, LQ 5,65 µg.g^{-1}; *Ácido p-cumárico*: LD 0,14 µg.g^{-1}, LQ 0,42 µg.g^{-1}; *Ácido cinâmico*: LD 0,14 µg.g^{-1}, LQ 0,42 µg.g^{-1}; *Miricetina*: LD 0,01 µg.g^{-1}, LQ 0,03 µg.g^{-1}; *Quercetina*: LD 0,16 µg.g^{-1}, LQ 0,50 µg.g^{-1}).
*não incluído na análise estatística.

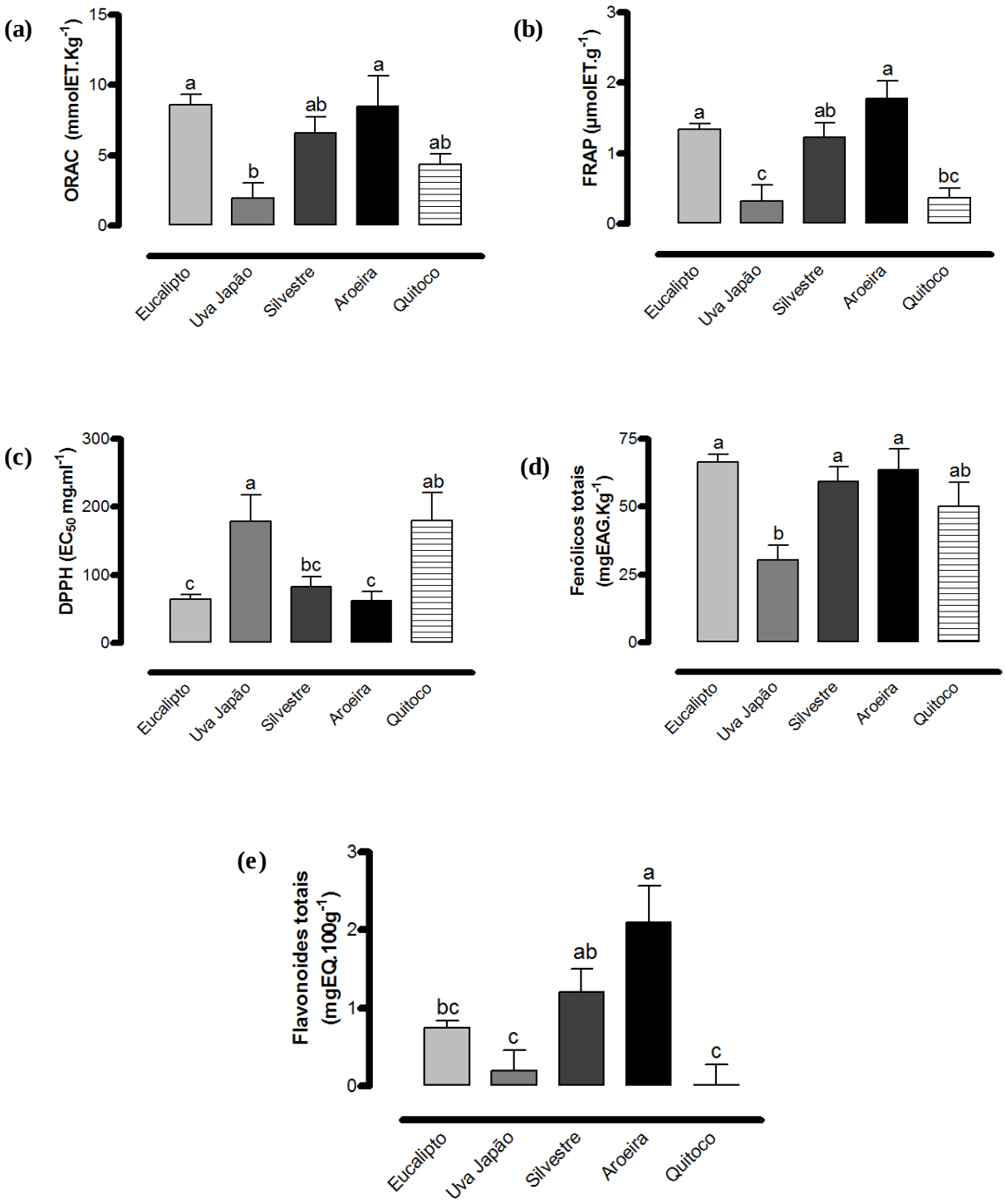


Figura 11. Capacidade antioxidante pelos métodos ORAC (a), FRAP (b) e DPPH (c), e teor de fenólicos totais (d) e flavonoides totais (e) das amostras de méis, agrupadas por origem botânica.

A **Figura 12** apresenta as correlações entre os métodos de capacidade antioxidante: ORAC, FRAP e DPPH. Foi observada forte correlação entre os métodos FRAP e ORAC (R^2=0,7965), FRAP e DPPH (R^2=-0,7670) e ORAC e DPPH (R^2=-0,6268) indicando alto grau de equivalência entre os métodos analisados.

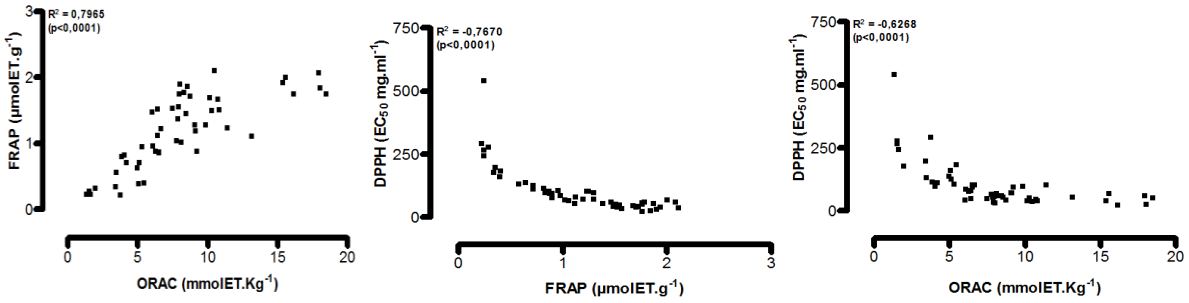


Figura 12. Correlação entre as análises da capacidade antioxidante pelos métodos ORAC, DPPH e FRAP.

Estudos sugerem que a atividade antioxidante do mel está relacionada com o conteúdo de compostos fenólicos. A **Figura 13** apresenta as correlações entre os resultados obtidos do conteúdo de fenólicos totais e flavonoides totais, com os resultados dos métodos de capacidade antioxidante: ORAC, DPPH e FRAP.

Observou-se forte correlação entre o conteúdo de fenólicos totais e os métodos ORAC (R^2=0,8297, p<0,01), FRAP (R^2=0,8183, p<0,01) e DPPH (R^2=-0,6934, p<0,01), demonstrando estreita interdependência entre o conteúdo de fenólicos totais e os métodos ORAC, FRAP e DPPH, indicando que a capacidade antioxidante dos méis analisados tem associação com os seus constituintes fenólicos.

O conteúdo de flavonoides totais, por sua vez, apresentou forte correlação com o método FRAP (R^2=0,8464, p<0,01) e ORAC (R^2=0,6211, p<0,01), e correlação moderada para o ensaio DPPH (R^2=-0,5918, p<0,01). Esses resultados indicam que, entre os métodos de capacidade antioxidante utilizados nesse estudo, o método FRAP, por ter apresentado o maior coeficiente de correlação, está fortemente relacionado a uma maior representatividade da capacidade antioxidante derivada dos polifenóis no mel.

Entre o conteúdo de fenólicos totais e flavonoides totais foi observada uma correlação moderada (R^2=0,5557, p<0,01) (**Figura 13**), assumida pela concentração muito baixa de flavonoides nos méis, com resultados que chegaram a zero. Esse resultado, sugere

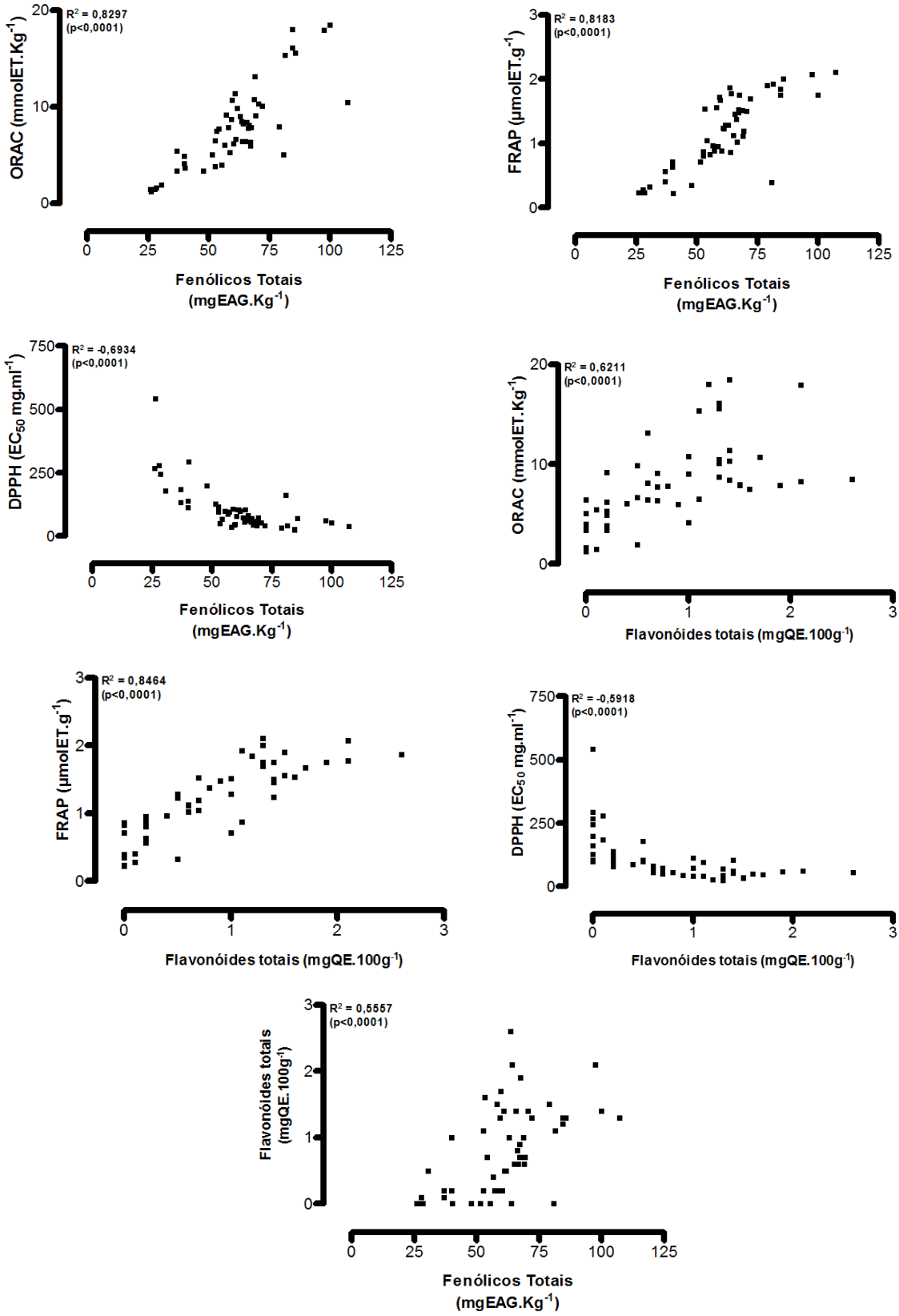


Figura 13. Correlação entre as análises da capacidade antioxidante pelos métodos ORAC, DPPH e FRAP com o conteúdo total de fenólicos e flavonoides.

que os flavonoides não são os componentes majoritários que conferem a atividade antioxidante dos méis avaliados, indicando a presença de outros compostos fenólicos. Além disso, os resultados implicam que a quantidade e o tipo de substâncias fenólicas nos méis são variáveis e dependem essencialmente da origem floral.

Alguns estudos têm avaliado a correlação entre o conteúdo de fenólicos totais (CFT) e algumas propriedades físico-químicas do mel. Nesse estudo foi possível observar algumas correlações, apresentadas na **Figura 14**.

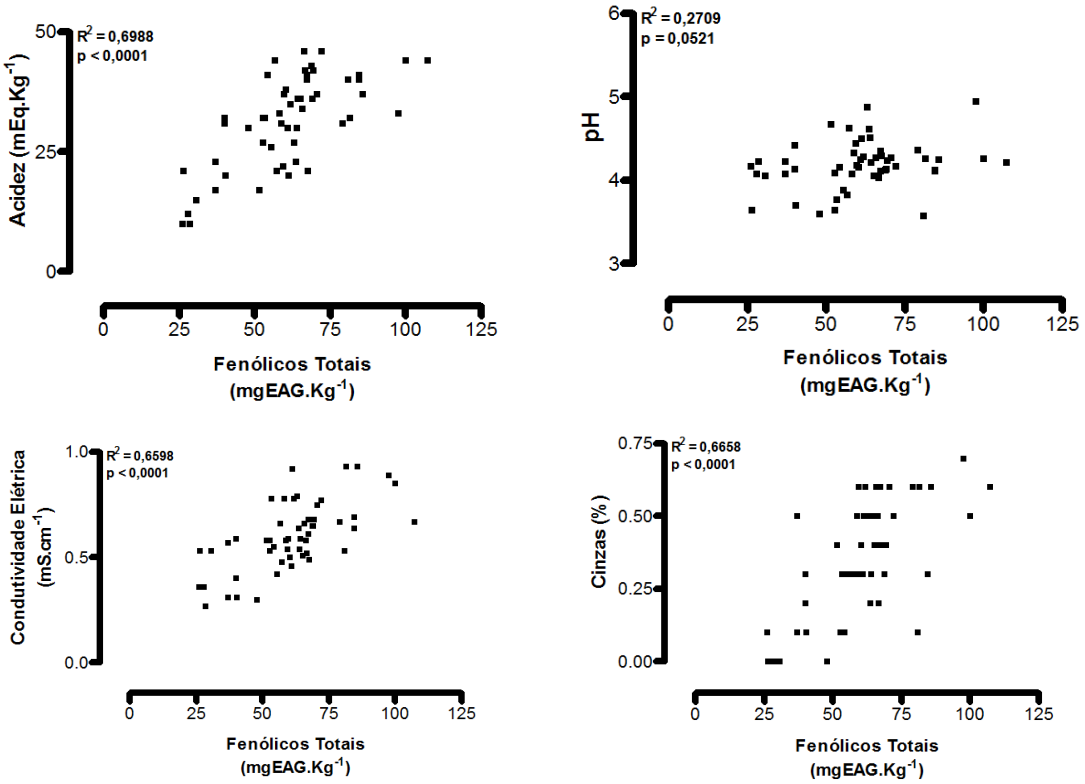


Figura 14. Correlação entre alguns parâmetros físico-químicos (acidez, pH, condutividade elétrica e cinzas) e o conteúdo de fenólicos totais dos méis.

Foi observada forte correlação entre a acidez e o CFT (R^2=0,6988); o conteúdo de cinzas e o CFT (R^2=0,6658); e a condutividade elétrica e o CFT (R^2=0,6598). Já para o pH e o CFT foi observada uma correlação fraca (R^2=0,2709).

5.15. Identificação e quantificação de compostos fenólicos nos méis

Os compostos fenólicos presentes no mel são derivados do néctar das flores, do pólen e da própolis, e são tipicamente compostos de ácidos benzoico e cinâmico e seus ésteres e alguns flavonoides (SILVA et al., 2013b).

A **Figura 15** mostra os cromatogramas dos compostos identificados e seus respectivos padrões.

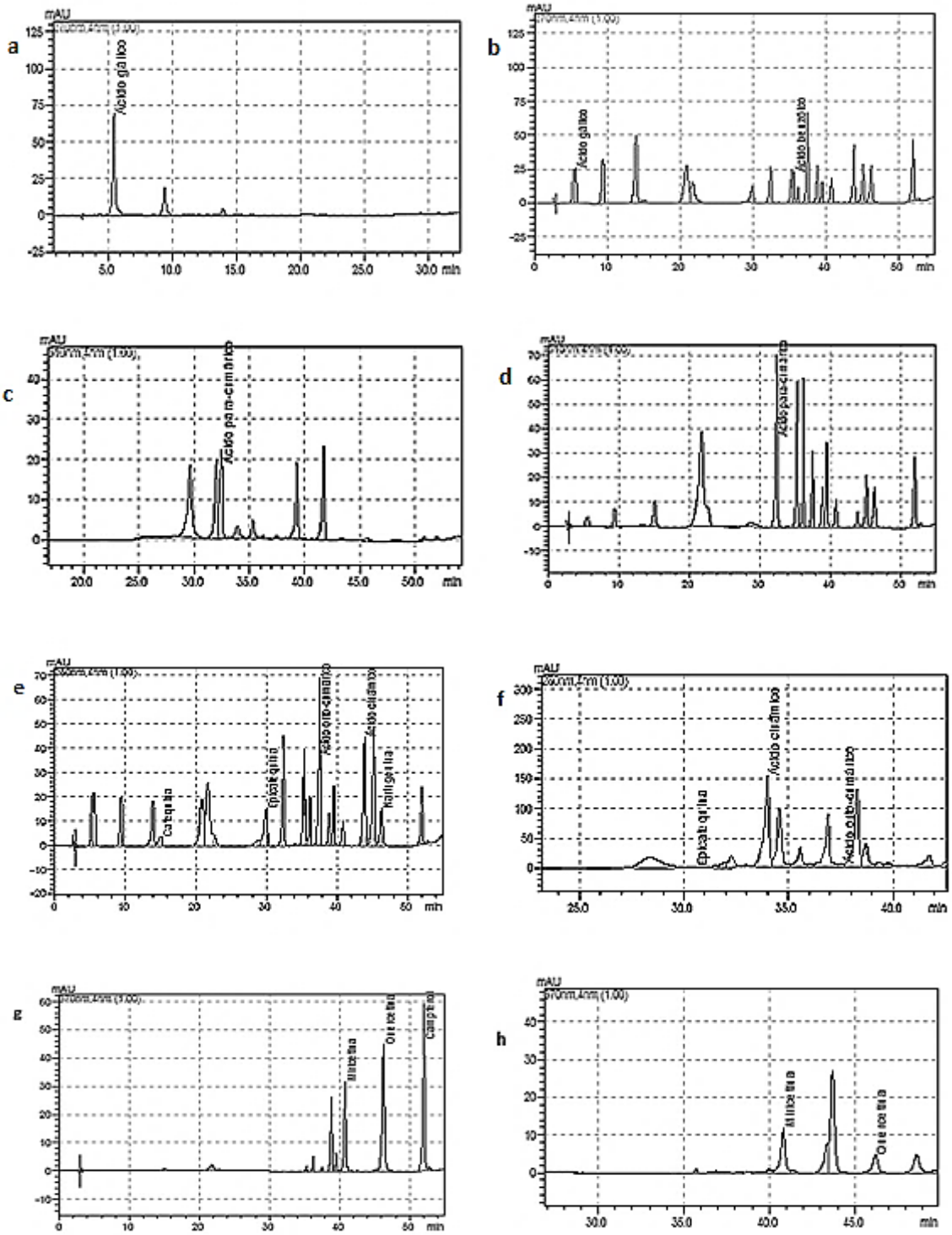


Figura 15. Cromatogramas dos compostos fenólicos majoritários presentes nos méis analisados. Ácido gálico a) padrão b) amostra (270nm); Ácido *p*-cumárico c) padrão d) amostra (310nm); Ácido cinâmico e) padrão f) amostra (280nm); Miricitina e Quercetina g) padrões h) amostra (370nm).

Foram identificados os ácidos fenólicos gálico, cinâmico e *p*-cumárico e, os flavonoides quercetina e miricetina, sendo o ácido gálico o composto fenólico majoritário encontrado nos méis avaliados (**Tabela 7**).

Resultados semelhantes foram encontrados no estudo realizado em méis da região Norte do Brasil, por Oliveira et al. (2012), apresentando como compostos majoritários identificados, respectivamente, o ácido gálico, o ácido *o*-cumárico, o ácido *p*-cumárico e a quercetina. Serem et al. (2012), por sua vez, afirmaram que a quercetina, a miricetina e o campferol são flavonoides comuns encontrados em méis europeus e africanos. Essas informações reforçam que a fonte floral pode ser um determinante no perfil de fenólicos no mel.

Observa-se na **Tabela 7,** que o ácido gálico foi predominante nas amostras de méis de eucalipto e aroeira. O ácido gálico tem diversas propriedades bioativas relatadas na literatura, tais como a bacteriostática, antioxidante e anticancerígena em células de carcinoma da próstata, além de estar relacionado a indução da morte de células de câncer do colo do útero por apoptose e necrose. Esse fenólico também tem sido relatado como um potente inibidor da sacarose e outros dissacarídeos na borda em escova no intestino de mamíferos (HELENO et al., 2015).

Além disso evidências mostram que os derivados do ácido hidroxicinâmico e flavonóides podem ser absorvidos pelo corpo humano em quantidades que são, em princípio, suficientes para exercer atividade antioxidante ou outra atividade biológica (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). Nesse estudo, a presença majoritária do ácido *p*-cumárico demonstrada nos méis da espécie uva japão, típica da região Sul e Sudeste do Brasil e, não estudada até o momento, é um dado importante. De acordo com Heleno et al. (2015), o ácido *p*-cumárico tem demonstrado atividade antioxidante, antitumoral em células de câncer de mama e atividade antimicrobiana, contra várias bactérias e fungos patógenos. É relatado que esse fenólico tem mecanismo duplo de atividade bactericida: é capaz de romper as membranas celulares das bactérias e ligarem-se ao DNA bacteriano para inibir funções celulares, conduzindo a morte celular. Contudo, a capacidade antioxidante para os méis de uva japão não apresentou valores significativos, sendo necessário mais estudos para elucidar essa questão.

Os compostos fenólicos que foram identificados nos méis avaliados têm demonstrado atividade antioxidante e são relatados na literatura como capazes de exercer efeitos protetores contra doenças graves, como o cancêr e doenças cardiovasculares. O estresse oxidativo imposto por espécies reativas de oxigênio (ERO), desempenham papel

importante na fisiopatologia associada a neoplasia, aterosclerose e doenças neurodegenerativas. Estima-se que o mecanismo do potencial efeito protetor dos compostos fenólicos, incluindo flavonoides, é a partir da eliminação direta de radicais livres (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; JE-RUEI et al., 2013). Dessa forma a presença de flavonoides como miricetina e quercetina em alguns dentre os méis analisados também reforça a questão de que o mel pode ser considerado um aliado, quando incluído na dieta, capaz de auxiliar na proteção contra possíveis efeitos deletérios à saúde.

Os compostos fenólicos, presentes em plantas, e em alimentos derivados, incluindo o mel, são de considerável interesse e podem constituir parte importante da dieta, uma vez que antioxidantes naturais podem auxiliar à saúde humana. Esses compostos são muito variáveis e, no mel, apresentam-se conforme a fonte floral que o originou.

6. CONCLUSÕES

Os parâmetros físico-químicos analisados apresentaram médias que se enquadraram dentro dos parâmetros exigidos pelas legislações brasileira e internacional (CODEX, 2001), indicando a autenticidade e qualidade dos méis avaliados.

A cor escura foi predominante nos méis de eucalipto, aroeira e silvestre, enquanto a cor clara foi presente nos méis de flor do campo, laranjeira, quitoco e uva japão. Além disso foi observado que os méis mais escuros apresentaram maior capacidade antioxidante.

A capacidade antioxidante mais elevada foi observada nos méis de eucalipto e aroeira, que apresentaram diferença significativa em relação as outras espécies estudadas.

O conteúdo de fenólicos totais não apresentou diferença entre as espécies eucalipto, aroeira e silvestre. Por outro lado, o teor de flavonoides foi superior no mel de aroeira, quando comparado ao mel de eucalipto, sugerindo a presença predominante de flavonoides no mel de aroeira e a presença de outros componentes fenólicos no mel de eucalipto.

Os ácidos gálico, cinâmico e o *p*-cumárico, e os flavonoides quercetina e miricetina, foram identificados em algumas amostras, sendo o ácido gálico o composto majoritário nos méis de eucalipto e aroeira, e o ácido *p*-cumárico nos méis de uva japão.

Por fim, esse estudo mostrou que as propriedades físico-químicas e bioativas do mel são influenciadas fortemente pela fonte floral que o originou e, que os méis da região Sul podem ser considerados boas fontes de compostos antioxidantes.

REFERÊNCIAS

ABEMEL, Brasil Apícola. 2015. Disponível em http://brazilletsbee.com.br/sobreo-brasil.aspx Acesso em: 13 de abril de 2015.

ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46-55, 2014.

AHMAD, N.; ZUO, Y.; LU, X.; ANWAR, F.; HAMEED, S. Characterization of free and conjugated phenolic compounds in fruits of selected wild plants. **Food Chemistry**, v. 190, n. 1, p. 80-89, 2016.

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

ALAM, M. D. N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, M. D. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 2, p. 143-152, 2013.

ALMEIDA, A. M. M.; OLIVEIRA, M. B. S.; COSTA, J. G.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F. Antioxidant Capacity, Physicochemical and Floral Characterization of Honeys from the Northeast of Brazil. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 57-77, 2016.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Tetragonisca angustula Pot honey compared to *Apis mellifera* honey from Brazil. In: Patricia Vit and Silvia RM Pedro. (Org.). **Pot-honey: a legacy of stingless bees**. New York: Springer, p. 375-382, 2013b.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; BERA, A. **Manual de Controle de Qualidade do mel**. 1. ed. São Paulo: Apacame, 2008. 32 p.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; PAMPLONA, L. C.; COIMBRA, S.; BARTH, O. M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 105–111, 2005.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; SOUSA, R. J.; BARTH, O. M.; GALLMANN, P. Preliminary data on Brazilian monofloral honey from the northeast region using FT-

IR ATR spectroscopic, palynological, and color analysis. **Química Nova**, v. 37, p. 716-719, 2014.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; STRAMM, K. M.; HORITA, A.; BARTH, O. M.; FREITAS, A. S.; ESTEVINHO, L. M. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 8, p. 1698-1706, 2013a.

ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; GIAMPIERI, F.; GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M.; DAMIANI, E. D.; ASTOLFI, P. A.; MARTINEZ-SANCHEZ, G.; BOMPADRE, S.; QUILES, J. L.; SANTOS-BUELGA, C.; BATTINO, M. Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1508-1516, 2012.

ALVES, M. J.; FERREIRA, I. C. F. R.; FROUFE, H. J. C.; ABREU, R. M. V.; MARTINS, A.; PINTADO, M. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, p. 346-357, 2013.

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

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

ARRUDA, V. A. S. Pólen apícola desidratado: composição físico-química, qualidade microbiológica, compostos fenólicos e flavonoides, atividade antioxidante e origem botânica. Tese de doutorado em Ciência dos Alimentos – USP, 2013.

BARTH, M. O.; MAIORINO, C.; BENATTI, A. P. T.; BASTOS, D. H. M. Determinação de parâmetros físico-químicos e da origem botânica de méis indicados monoflorais do sudeste do brasil. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 25, n. 2, p. 229-233, 2005.

BASTOS, D. H. M. et al. Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis de eucalipto e laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 122-129, 2002.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia,** São Paulo, v. 53, n. 5, 2009.

BELAY, A.; SOLOMON, W. K.; BULTOSSA, G.; ADGABA, N.; MELAKU, S. Physicochemical properties of the Harenna forest honey, Bale, Ethiopia. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3386-3392, 2013.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidante power": the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BERA, A.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 49-52, 2007.

BERETTA, G.; GRANATA, P.; FERRERO, M.; ORIOLI, M.; FACINO, R. M. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 533, p. 185–191, 2005.

BERTONCEL, J.; DOBERSEK, U.; JAMNIK, M.; GOLOB, T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, v. 105, p. 822–828, 2007.

BILUCA, F. C.; BETTA, F. D.; OLIVEIRA, G. P.; PEREIRA, L. M.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 159, n. 15, p. 244-249, 2014.

BOBO-GARCIA, G.; DAVIDOV-PARDO, G.; ARROQUI, C.; VÍRSEDA, P.; MARÍN-ARROYO, M. R.; NAVARRO, M. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture,** v. 95, n. 1, p. 204-9, 2015.

BOGDANOV, S. Honey quality and international regulatory standards: review by International Honey Comission. **Bee World**, Gerrard Cross, v. 80, n. 2, p. 6169, 1999.

BOGDANOV, S. **The Book of Honey: a short history of honey**. Bee Product Science, chapter 1, 2009.

BORLINGHAUS, F.; ALBRECHT, F.; GRUHLKE, M. C. H.; NWACHUKWU, I. D.; SLUSARENKO, A. J. Allicin: Chemistry and biological properties. **Molecules**, v. 19, p. 12591-12618, 2014.

BOUSSAID, A.; CHOUAIBI, M.; REZIG, L.; HELLAL, R.; DONSÌ, F.; FERRARI, G.; HAMDI, S. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. **Arabian Journal of Chemistry**, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000**. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Diário Oficial da União, de 20 de outubro de 2000, 2000.

BRUDZYNSKI, K.; MIOTTO, D. The relationship between the content of Maillard reaction-like products and bioactivity of Canadian honeys. **Food Chemistry**, v. 124, n. 3, p. 869-874, 2011.

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

CAN, Z.; OKTAY, Y.; SAHIN, H. TURUMTAY, E. A. SILIC, S.; KOLAYLI, S. An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. **Food Chemistry**, v.180, p. 133-141, 2015.

CANO, C. B.; FELSNER, M. L.; MATOS, J. R.; BRUNS, R. E.; WHATANABE, H. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Comparison of Methods for Determining Moisture Content of Citrus and Eucalyptus Brazilian Honeys by Refractometry. **Journal of food composition and analysis**, v. 14, p. 101-109, 2001.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. The role of phenolic compounds in the fight against cancer – A review. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 1236-1258, 2013.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n .2, 2007.

CHAKIR, A.; ROMANE, A.; MARCAZZAN, G. L.; FERRAZZI, P. Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco. **Arabian jornal of Chemistry**, 2011.

CODEX ALIMENTARIUS. Revised codex standard for honey. Rev. 2 [2001]. 24th Session of the Codex Alimentarius in 2001. Disponível em: www.condexalimentarius.net/standard. Acesso em: 20 de abril de 2016.

DAS, A.; DATTA, S.; MUKHERJEE, S.; BOSE, S.; GHOSH, S.; DHAR, P. Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of *Sesamum indicum* honey containing phenolic compounds and lignans. **Food Science and Technology**, v. 61, n. 1, p. 244-250, 2015.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 811-819, 2015.

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, 2014.

ESCUREDO, O.; MÍGUEZ, M.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; SEIJO, M. C. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic área. **Food Chemistry**, v. 138, p. 851-856, 2013.

ESTEVINHO, L.; PEREIRA, A.N.; MOREIRA, L.; DIAS, L.G.; PEREIRA, E. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 37743779. 2008.

FANG, Y.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants and nutrition. **Nutrition**, v. 18, n. 10, p. 872-879, 2002.

FAO. Statistical yearbook world food and agriculture. 2013. Disponível em: http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e.PDF. Acesso em: 01 de maio de 2015.

FELSNER, M. L.; CANO, C. B.; MATOS, J. R.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; BRUNS, R. E. Optimization of Thermogravimetric Analysis of Ash Content in Honey, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 6, p. 797-802, 2004.

FILIPOVIC, M.; MARKOVIC, Z.; ĐOROVIC, J.; DIMITRIC, J.; MARKOVIC; LUCIC, B.; AMIC, D. QSAR of the free radical scavenging potency of selected hydroxybenzoic acids and simple phenolics. **Comples Rendus Chimie**, v. 18, n. 5, p. 492-498, 2015.

FINCO, F. D. B. A.; MOURA, L. L.; SILVA, I. G. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera L*. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, n. 3, 2010.

FINOCCHIARO, F.; FERRARI, B.; GIANINETTI, A. A study of biodiversity of flavonoid content in the rice caryopsis evidencing simultaneous accumulation of anthocyanins and proanthocyanidins in a black-grained genotype. **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 28–34, 2010.

FINOLA, M. S. et al. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1649–1653, 2007.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

GASIC, U.; KECKES, S.; DABIC, D.; TRIFKOVIC, J.; MILOJKOVIC-OPSENICA, D.; NATIC, M.; TESIC, Z. Phenolic profile and antioxidant activity of Serbian polyfloral honeys. **Food Chemistry**, v. 145, n. 15, p. 599-607, 2014.

GORJANOVIC, S. Z.; ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; NOVAKOVIC, M. M.; PASTOR, F. T.; PEZO, L.; BATTINO, M.; SUZNJEVIC, D. Z. Comparative analysis of antioxidant activity of honey of different floral sources using recently developed polarographic and various spectrophotometric assays. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 30, n. 1, p. 13-18, 2013.

HABIB, H. M.; MEQBALI, F. T.; KAMAL, H.; SOUKA, U. D.; IBRAHIM, W. H. Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. **Food chemistry**, v. 153, p. 35-43, 2014.

HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501-513, 2015.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidante capacity assays. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Brasil - Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. IV ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

IBGE. Produção da pecuária municipal volume 40. 2012. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2012 /ppm2012.pdf. Acesso em: 12 de maio de 2015.

IHC. International Honey Commission. Harmonised methods of the international honey commission. 2009. Disponível em: http://www.ihcplatform.net/ihcmethods2009.pdf. Acesso em 22 de maio de 2016.

IRONDI, E. A.; OBOH, G.; AKINDAHUNSI, A. A.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L. Phenolics composition and antidiabetic property of Brachystegia eurycoma seed flour in high-fat diet, low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetes in rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 5, p. 159-165, 2015.

JE-RUEI, L.; YI-LING, Y. E.; TING-YU, L.; YUN-WEN, W.; CHI-CHUNG, P. Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. **Food Chemistry**, v. 139, p. 938-943, 2013.

KADRI, S. M.; ZALUSKI, R.; LIMA, G. P. P.; MAZZAFERA, P.; ORSI, R. O. Characterization of *Coffea arabica* monofloral honey from Espírito Santo, Brazil. **Food Chemistry**, v. 203, p. 252-257, 2016.

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. 548–557, 2014.

KECKES, S.; GASIC, U.; VELICKOVIC, T. C.; MILOJKOVIC-OPSENICA, D.; NATIC, M.; TESIC, Z. The determination of phenolic profiles of Serbian unifloral honeys using ultra-high-performance liquid chromatography/high resolution accurate mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 32-40, 2013.

KIRS, E.; PALL, R.; MARTVERK, K.; LAOS, K. Physicochemical and melissopalynological characterization of Estonian summer honeys. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 616-624, 2011.

KLEIN, A. M.; VAISSIÈRE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of

pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society**, v. 274, p. 303–313, 2007.

KUMAR, R.; CHHATWAL, S.; ARORA, S.; SHARMA, S.; SINGH, N.; KHURANA, A. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic, anti-inflammatory and adenosine deaminase-lowering effects of garlic in patients with type 2 diabetes mellitus with obesity. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 6, p. 49-56, 2013.

LABAT-ROBERT, J.; ROBERT, L. Longevity and aging. Role of free radicals and xanthine oxidase. A review. **Pathologie Biologie**, v. 62, n. 2, p. 61-66, 2014.

LIANDA, R. L. P.; SANTANA, L. D.; ECHEVARRIA, A.; CASTRO, R. N. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Brazilian Honeys and their Extracts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 0, p. 01-10, 2012.

LIU, Y.; WANG, P.; CHEN, F.; YUAN. Y.; ZHU, Y.; YAN, H.; HU, X. Role of plant polyphenols in acrylamide formation and elimination. **Food Chemistry**, v. 186, n. 1, p. 46-53, 2015.

LUCAS-ABELLAN, C.; MERCADER-ROS, M. T.; ZAFRILLA, M. P.; GABALDON, J. A.; NUNEZ-DELICADO, E. Comparative study of different methods to measure antioxidant activity of resveratrol in the presence of cyclodextrins. **Food and chemical toxicology**, v. 49, p. 1255-1260, 2011.

MARCHINI, L. C.; SODRE, G.S.; MORETI A.C.C.C. **Mel Brasileiro: composição e normas**; Ribeirão Preto: A.S. Pinto, 2004.

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

MARTINS, N.; PETROPOULOS, S.; FERREIRA, I. C. F. R. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum L.*) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. **Food Chemistry**, v. 211, p. 41-50, 2016.

MAURIZIO, A.; LOUVEAUX, J. Pollens des plantes mellifères d'Europe. Paris, 1965. 148p. MENDES, C. G.; et al. As análises do mel: revisão. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 2, 2009.

NICKLISCH, S. C. T.; WAITE, J. H. Optimized DPPH assay in a detergent-based buffer system for measuring antioxidant activity of proteins. **MethodsX**, v. 1, p. 233-238, 2014.

OLIVEIRA, P. S.; MÜLLER, R. C. S.; DANTAS, K. G. F.; ALVES, C. N.; VASCONCELOS, M. A. M.; VENTURIERI, G. C. Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (apidae, meliponini) e *Apis mellifera* (apidae, apini) da amazônia. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1728-1732, 2012.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10-36, 2015.

PAS indústria. **Manual de segurança e qualidade para Apicultura**. Brasília: SENAI/DN, 2008. Convênio SENAI/SEBRAE/SENAC/SESC/SESI. 69p.

PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; CAMARGO, R. C. R.; VILELA, S. L. O. Produção de Mel. Embrapa Meio-Norte, versão eletrônica, jul. 2003. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/. Acesso em: 15 de abril de 2015.

PONTIS, J. A.; COSTA; L. A. M. A.; SILVA, S. J. R.; FLACH, A. Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 34, p. 69-73, 2014.

PREMRATANACHAI, P.; CHANCHAO, C. Review of the anticancer activities of bee products. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 5, p. 337-344, 2014.

PRIOR, R. L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R. Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of Plasma and Other Biological and Food Samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 11, p. 3273-3279, 2003.

RAMADAN, M. F.; AL-GHAMDI, A. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly. **Journal of Functional Foods**, p. 39-52, 2012.

SABATINI, A. G.; MARCAZZAN, G. L.; CABONI, M. F.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN. L. B. Quality and standardisation of Royal Jelly. **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**, v. 1, n. 1, p. 16-21, 2009.

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

SAK-BOSNAR, M.; SAKAC, N. Direct potentiometric determination of diastase activity in honey. **Food Chemistry**, v. 135, n. 2, p. 827-831, 2012.

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidante efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of functional foods**, v. 14, p. 111–125, 2015.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Apicultura no Brasil. 2014. Mel no Brasil. Disponível em: http://www.sebrae2014.com.br/Sebrae/Sebrae%202014/Estudos%20e%20Pesquisas/2014_06_06_RT_Agroneg%C3%B3cio_Oportunidades_para_o_mercado_de_mel.pdf. Acesso em: 12 de maio de 2015.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Apicultura no Brasil. 2015. Disponível em: http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/Conhe%C3%A7a-ohist%C3%B3rico-da-apicultura-no-Brasil. Acesso em: 16 de abril de 2015.

SEREM, J. C.; BESTER, M. J. Physicochemical properties, antioxidant activity and cellular protective effects of honeys from southern Africa. **Food Chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1544-1550, 2012.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of functional foods**, 2015.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of functional foods**, v. 18, p. 757-781, 2015.

SHAO, Y.; XU, F.; SUN, X.; BAO, J.; BETA, T. Identification and quantification of phenolic acids and anthocyanins as antioxidants in bran, embryo and endosperm of white, red and black rice kernels (Oryza sativa L.). **Journal of Cereal Science**, v. 59, p. 211-218, 2014.

SILVA, I. A. A.; SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; QUEIROZ, N.; MAGNANI, M.; NOVAIS, J. S.; SOLEDADE, L. E. B.; LIMA, E. O.; SOUZA, A. L.; SOUZA, A. G. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3552-3558, 2013a.

SILVA, M. B. L.; CHAVES, J. B. P.; MESSAGE, G.; GOMES, J. C.; OLIVEIRA, G. L. Qualidade microbiológica de méis produzidos por pequenos apicultores e de méis de entrepostos registrados no Serviço de Inspeção Federal no estado de Minas Gerais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 417-420, 2008.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010.

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.

SILVA, R. A.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C. Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 1, p. 113-120, 2006.

SILVA, T. M. S.; SANTOS, F. P.; RODRIGUES, A. E.; SILVA, E. M. S.; SILVA, G. S. S.; NOVAIS, J. S. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaira (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p. 10-18, 2013b.

SILVANO, M. F.; VARELA, M. S.; PALACIO, M. A.; RUFFINENGO, S.; YAMUL, D. K. Physicochemical parameters and sensory properties of honeys from Buenos Aires region. **Food Chemistry**, v. 152, n. 1, p. 500-507, 2014.

SINDHI, V.; GUPTA, V.; SHARMA, K.; BHATNAGAR, S.; KUMARI, R.; DHAKA, N. Potential applications of antioxidants – A review. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, n. 9, p. 828-835, 2013.

SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C.; OTSUKI, I. P.; CARVALHO, C. A. L. 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, 2007a.

SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; ZUCCHI, O. L. A. D.; NASCIMENTO FILHO, V. F.; OTSUK, I. P.; MORETI, A. C. C. C. Determination of chemical elements in africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) honey samples from the State of Piauí, Brazil. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 920-924, 2007b.

SOUSA, J. M. B.; SOUZA, E. L.; MARQUES, G.; BENASSI, M. T.; GULLÓN, B. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. **Food Science and Technology**, v. 65, p. 645-651, 2016.

SOUZA, D. C. **Apicultura: Manual do Agente de Desenvolvimento Rural**. 2. Ed., 186p., rev. Brasília, Sebrae, 2007.

SPILIOTI, E.; JAAKKOLA, M.; TOLONEN, T.; LIPPONEN, M.; VIRTANEN, V.; CHINOU, I.; KASSI, E.; KARABOURNIOTI, S.; MOUTSATSOU, P. Phenolic Acid Composition, Antiatherogenic and Anticancer Potential of Honeys Derived from Various Regions in Greece. **Plos one**, v. 9, 2014.

TAOFIQ, O.; CALHELHA, R. C.; HELENO, S.; BARROS, L.; MARTINS, A.; SANTOS-BUELGA, C.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. The contribution of phenolic acids to the anti-inflammatory activity of mushrooms: Screening in phenolic extracts, individual parent molecules and synthesized glucuronated and methylated derivatives. **Food Research International**, v. 76, p. 821-827, 2015.

TUBEROSO, C. I. G.; JERKOVIC, I.; SARAIS, G.; CONGIU, F.; MARIJANOVIC, Z.; KUS, P. M. Color evaluation of seventeen European unifloral honey types by means of spectrophotometrically determined CIE $L^*C^*_{ab}h^\circ_{ab}$ chromaticity coordinates. **Food Chemistry**, v. 145, p. 284-291, 2014.

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

WIESE, H. **Apicultura novos tempos**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 424p.

WINK, M. **Secondary Metabolites, the Role in Plant Diversification**. Academic press: Encyclopedia of Evolutionary Biology. Ed. 1, 2016, 2132p.

XU, B. J.; CHANG, S. K. A comparative study on phenolic profiles and antioxidante activities of legumes as affected by extration solventes. **Journal Food Science**, v. 72, p. 159-66, 2007.

YUCEL, Y.; SULTANOGLU, P. Characterization of honeys from Hatay region by their physicochemical properties combined with chemometrics. **Food Bioscience**, v. 1, p. 16-25, 2013.

ZHANG, J. Z.; SHEN, J.; SILVA, A.; DENNIS, D. A.; BARROW, C. J. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol contente in seaweeds. **Journal of Applied Phycology**, v. 18, p. 445-450, 2006.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 310-316, 2009.