

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM ZOOTECNIA

DOUGLAS GALHARDO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DE AMOSTRAS DE MEL DE *Apis mellifera* L. DO OESTE DO
PARANÁ, SUL DO BRASIL**

Marechal Cândido Rondon

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM ZOOTECNIA

DOUGLAS GALHARDO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DE AMOSTRAS DE MEL DE *Apis mellifera* L. DO OESTE DO
PARANÁ, SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição Animal, para a obtenção do título de “Mestre”

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Regina Conceição Garcia
Coorientador: Prof. Dr. Emerson Dechechi Chambó

Marechal Cândido Rondon

2018

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Galhardo, Douglas

Caracterização físico-química, microbiológica e de compostos bioativos de amostras de mel de *Apis mellifera* L. do Oeste do Paraná, Sul do Brasil / Douglas Galhardo; orientador(a), Regina Conceição Garcia; coorientador(a), Emerson Dechechi Chambó, 2018.

71 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2018.

1. Caracterização físico-química. 2. Microbiologia. 3. Compostos fenólicos. 4. Atividade antioxidante. I. Conceição Garcia, Regina . II. Dechechi Chambó, Emerson . III. Título.

DOUGLAS GALHARDO

Caracterização físico-química, microbiológica e de compostos bioativos de amostras de mel de *Apis mellifera* L. do Oeste do Paraná, Sul do Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de *Mestre em Zootecnia*, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, Linha de Pesquisa “Produção e Nutrição de Não-Ruminantes”, APROVADA pela seguinte Banca Examinadora:



Orientadora – Prof.^a Dr.^a Regina Conceição Garcia
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) – *Campus* de Mal. Cândido Rondon



Prof. Dr. Gilberto Costa Braga
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon



Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo
Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Marechal Cândido Rondon, 08 de março de 2018.

DEDICO esse trabalho, antes de todos, aos que fizeram o possível para sua realização

A minha mãe Antônia Ranucci Galhardo

A minha irmã Suelen Ranucci Galhardo

E ao meu pai José Galhardo Filho (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

À minha família, por todo o apoio.

À Professora Doutora Regina Conceição Garcia pela orientação, não só acadêmica, mas sobre comportamentos pessoais, acima de tudo, compreensão e dedicação com o presente trabalho, pelas discussões e por conceder-me liberdade em realizar este trabalho.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Ao Professor Doutor Emerson Dechechi Chambó, meu co-orientador, pelo apoio, pelo esclarecimento de dúvidas e a disponibilidade em ajudar.

Ao Professor Doutor Gilberto Costa Braga pelos ensinamentos, disponibilidade e dedicação, além das inúmeras conversas esclarecedoras.

Ao Professor Vagner de Alencar Arnaut de Toledo pelas sugestões que melhoraram a qualidade deste trabalho.

Aos acadêmicos e técnico do Grupo de Estudo e Pesquisa com Abelhas, sem eles não seria possível a realização desse trabalho.

À minha namorada, Cibele Regina Schneider pela amizade, apoio e compreensão nesse período intenso que passamos.

Aos meus amigos pelos momentos de trabalho e descontração.

Ao assistente do programa Paulo Henrique Morsch pela dedicação, ajuda e disposição.

À Cooperativa Agrofamiliar Solidária dos Apicultores da Costa Oeste do Paraná que disponibilizou as amostras de mel, permitindo a realização deste trabalho.

Aos funcionários e professores da UNIOESTE, que em algum momento colaboraram com a pesquisa, direta ou indiretamente, e não foram citados.

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DE AMOSTRAS DE MEL DE *Apis mellifera* L. DO OESTE DO
PARANÁ, SUL DO BRASIL**

RESUMO

O mel produzido na região Oeste do Paraná, devido as suas qualidades físico-químicas e a organização agroindustrial, que envolve seu processamento e comercialização obteve o selo de Indicação de Procedência. Assim este estudo avaliou as características físico-químicas, compostos fenólicos, atividade antioxidante e a qualidade microbiológica de 67 amostras de mel de *Apis mellifera*, coletadas em 14 municípios localizados na região Oeste do estado do Paraná, Sul do Brasil. Foram submetidas a análises físico-químicas: umidade, pH, hidroximetilfurfural, acidez, proteína, cinzas, açúcares totais, açúcares redutores, sacarose, cor, condutividade elétrica e também foi avaliado fenóis totais, flavonoides e a atividade antioxidante pelos métodos de FRAP, ABTS e DPPH. A qualidade microbiológica foi realizada, avaliando a contagem de coliformes a 35°C e a 45°C, bactérias aeróbias mesófilas, *Clostridium* spp., contagem total de mofos e leveduras. Foram calculados os valores mínimos e máximos, medianas, médias e quartis. O emprego do escalonamento não métrico multidimensional foi utilizado para testar as similaridades dos parâmetros entre diferentes amostras de mel. A qualidade microbiológica das amostras de mel analisadas apresentou valores adequados para consumo humano. Foram isolados cinco gêneros de mofo: *Cladosporium* spp., *Phoma* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp., comumente encontrados no mel. As avaliações físico-químicas em sua maioria encontraram-se dentro das especificações determinadas pelas legislações nacional e internacional. Os valores médios foram de 18,75% para umidade, pH de 3,26, HMF de 10,79 mg.kg⁻¹, acidez de 34,54 meq.kg⁻¹, teor de proteína de 0,28%, cinzas de 0,14%, açúcares totais de 69,09%, açúcares redutores de 64,57%, sacarose de 4,28% e 340,10 μS.cm⁻¹ para condutividade. A cor na escala Pfund apresentou 0,26 mm, havendo uma dominância de tonalidades mais claras, o que favorece a aceitabilidade e comercialização do mel produzido na região. Os compostos fenólicos totais foram analisados pelo Folin-Ciocalteu e flavonoides pelo método de complexação com cloreto de alumínio, apresentando teor médio de 34,83 mgGAE.100 g⁻¹ e 16,26 mgEQ.100 g⁻¹, respectivamente. A atividade antioxidante das amostras de mel apresentou valor médio de 0,12 μmolET. g⁻¹ para DPPH, de 1,01 μmolET. g⁻¹ ABTS⁺, e de 2,68 μmolSFE. g⁻¹ para FRAP. As análises apresentaram a formação de dois grupos para avaliação microbiana,

ocorrendo um grande grupo com 64 amostras e um grupo isolado, destacando os valores de coliformes totais. Em relação aos parâmetros físico-químicos, compostos bioativos e atividade antioxidante, a análise verificou a formação de nove grupos, comportando-se de modo semelhantes em relação a alguns parâmetros. As avaliações apresentaram que as amostras de mel dos 14 municípios possuem grande similaridade. Esses resultados são importantes para confirmar a qualidade do mel produzido no Oeste do Paraná.

Palavras-chave: ácidos fenólicos, coliformes, cor, denominação de origem, flavonoides, microrganismos

PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION, MICROBIOLOGICAL AND BIOACTIVE COMPOUNDS OF HONEY SAMPLES OF *Apis mellifera* L. WEST OF PARANÁ, SOUTH OF BRAZIL

ABSTRACT

The honey produced in the west region of Paraná, due to its physical-chemical qualities and the agro-industry organization, which involves its processing and commercialization, obtained the seal of Indication of Provenance. The objective of this study was to characterize the physicochemical characterization, phenolic compounds, antioxidant activity and the microbiological quality of 67 honey samples of *Apis mellifera* collected in 14 municipalities located in the West region of the state of Paraná, southern Brazil. The physico-chemical analyzes were: moisture, pH, hydroxymethylfurfural, acidity, protein, ashes, total sugars, reducing sugars, sucrose, color, electrical conductivity and also the total phenol, flavonoids and antioxidant activity were evaluated. FRAP, ABTS and DPPH. Microbiological quality was evaluated by counting coliforms at 35°C and at 45°C, mesophilic aerobic bacteria, *Clostridium* spp., total counts of molds and yeasts. The minimum and maximum values, medians, means and quartiles were calculated. The use of non-metric multidimensional scaling (NMDS) was used to test the differences of the parameters between different samples of honey. The microbiological quality of the analyzed honey samples presented adequate values for human consumption. Five genus of mold were isolated: *Cladosporium* spp., *Phoma* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. and *Penicillium* spp., commonly found in honey. The physico-chemical evaluations were mostly within the specifications determined by national and international legislation. The mean values were 18.75% for moisture, pH of 3.26, HMF of 10.79 mg.kg⁻¹, acidity of 34.54 meq.kg⁻¹, protein content of 0.28%, ash of 0.14%, total sugars of 69.09%, reducing sugars of 64.57%, sucrose of 4.28%, and 340.10 μS.cm⁻¹ for conductivity. The color on the Pfund scale showed 0.26 mm, with a predominance of lighter shades, which favors the acceptability and commercialization of honey produced in the region. The total phenolic compounds were analyzed by Folin-Ciocalteu and flavonoids by the complexation method with aluminum chloride, with a mean content of 34.83 mgGAE.100 g⁻¹ and 16.26 mgEQ.100 g⁻¹, respectively. The antioxidant activity of honey samples presented a mean value of 0.12 μmolET. g⁻¹ for DPPH of 1.01 μmolET. g⁻¹ ABTS +, and 2.68 μmolSFE. g⁻¹ for FRAP. The analyzes presented the formation of two groups for microbial evaluation, with a large group with 64 samples and one isolated group, highlighting the total coliform values. In relation to the physical-chemical parameters, bioactive compounds and antioxidant activity, the analysis

verified the formation of nine groups, behaving similarly in relation to some parameters. The evaluations showed that the samples of the municipalities evaluated presented great similarity. These results are important to confirm the quality of the honey produced in the West of Paraná.

Key words: coliforms, color, denomination of origin, flavonoids, microorganisms, phenolic acids

Sumário

1 INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO	12
2.1 Panorama da produção de mel no mundo e no Brasil	12
2.2 Histórico da produção de mel na região Oeste do Paraná.....	13
2.3 Transformação do néctar em mel	14
2.4 Parâmetros físico-químicos e qualidade do mel.....	14
2.5 Compostos fenólicos e atividade antioxidante	18
2.6 Microrganismos no mel.....	19
3 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS AFRICANIZADAS (<i>Apis mellifera</i> L.) DE MUNICÍPIOS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, SUL DO BRASIL	25
3.1 Introdução	27
3.2 Material e Métodos	28
3.2.1 Análises microbiológicas	29
3.2.2 Análise estatística.....	31
3.3 Resultados e Discussão	31
3.4 Conclusão	38
4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS AFRICANIZADAS DO OESTE DO PARANÁ, SUL DO BRASIL	42
4.1 Introdução	44
4.2 Material e Métodos	45
4.2.1 Origem geográfica das amostras de mel.....	45
4.2.2 Análises físico-químicas	46
4.2.2.1 Umidade (%)	47
4.2.2.2 pH.....	47
4.2.2.3 Acidez livre (meq.kg ⁻¹)	47
4.2.2.4 Cinzas (%).....	47
4.2.2.5 Cor	47
4.2.2.6 Condutividade elétrica (µS.cm ⁻¹).....	47
4.2.2.7 Determinação de Proteína (%).....	48
4.2.2.8 Determinação de Hidroximetilfurfural (HMF)	48

4.2.2.9 Determinação do conteúdo de açúcares redutores, açúcares totais e sacarose aparente (%)	48
4.2.2.10 Determinação dos componentes fenólicos totais	48
4.2.2.11 Determinação do conteúdo totais de flavonoides totais	48
4.2.3 Determinação da atividade antioxidante	49
4.2.3.1 Método de redução de oxidação férrica (FRAP)	49
4.2.3.2 Atividade sequestrante do radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	49
4.2.3.3 Ensaio de descoloração do radical catiônicos 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) ABTS	49
4.2.4 Análise estatística.....	50
4.3 Resultados e Discussões.....	50
4.3.1 Parâmetros físico-químicos.....	50
4.3.2 Compostos bioativos	55
4.3.3 Atividade antioxidante	57
4.4 Conclusões	61
4.5 Referências	62
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, nos últimos anos, vem apresentando grande crescimento apícola (ABEMEL, 2018) por apresentar uma qualidade superior em seus produtos, com isso ocorreu a inserção do mesmo no mercado externo, o que favoreceu o desenvolvimento da cadeia. Além disso, o país apresenta vasta área geográfica com grande diversidade de espécies melíferas para produção apícola (BARTH, 2004; SEKINE et al., 2013; FERREIRA e ABSY, 2018; NASCIMENTO et al., 2018).

No ano de 2016 o volume das exportações mundiais de mel foi de 634,249 mil toneladas. Entre os 10 maiores exportadores está o Brasil (ABEMEL, 2018), nesse mesmo ano a produção brasileira de mel foi de 39,59 mil toneladas de mel (IBGE, 2016), com um aumento de 5,1% em relação ao ano de 2015.

A região sul do país foi responsável por 43% da produção nacional e o estado do Paraná, por apresentar regiões com alto potencial apícola, foi o 2º produtor nacional, com uma produção de 5,992 toneladas (IBGE, 2018), entre os municípios que se destacaram, encontra-se o município de Ortigueira com uma produção de 700 toneladas, já que também foi a primeira região a conseguir o selo de Denominação de Origem do mel no país.

A região oeste do Paraná produziu 705 toneladas, o que representa 15,6% da produção do estado (IBGE, 2018). Devido à importância dessa região no cenário apícola do Estado, a cadeia agroindustrial em parceria com as Universidades vêm trabalhando no sentido de obter a certificação de Denominação de Origem do mel produzido na região Oeste do Paraná, onde vem auxiliando com pesquisas e apresentando pontos favoráveis na obtenção do selo junto ao Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI, 2017), de forma a expressar todas as características e as qualidades do mel produzido.

Nesse intuito, diferentes trabalhos foram realizados com o mel da região em que verificaram a sua composição botânica (MORAES, 2012), bem com a suas características físico-químicas (CAMARGO et al., 2014; MORAES et al., 2014; ARNHOLD, 2016; RADTKE, 2016), a produção e a criação de sistema de informação geográfica (CAMARGO et al., 2014), também o mel como bioindicador ambiental para agroquímicos (CUNHA, 2016).

As avaliações realizadas foram de acordo com Codex (2001) que apresenta o padrão internacional de qualidade do mel, tais como os de qualidade sensorial: odor e cor, e parâmetros físico-químicos, como o teor de umidade, açúcares redutores e sacarose, minerais, hidroximetilfurfural (HMF) e acidez, atividade diastásica e sólidos insolúveis em água. Além das análises de rotina foram realizadas as avaliações microbiológicas, embora não sejam exigidas

como análise de rotina pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), e dos comitês normativos. As análises reforçam a segurança alimentar do produto além de auxiliar no diagnóstico de possíveis falhas higiênico-sanitárias no manejo das colônias e manipulação do produto.

Assim, após 10 anos da formação da Cooperativa, o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade do mel produzido na Região Oeste do Paraná, de acordo com a normativa vigente dos parâmetros físico-químicos, complementando informações obtidas em pesquisas realizadas em safras anteriores. Além disso, foram avaliadas a atividade antioxidante e as condições higiênico-sanitárias das amostras de mel produzidas por apicultores associados a cooperativa, aspectos importantes para garantir a segurança alimentar do produto.

2. REVISÃO

2.1 Panorama da produção de mel no mundo e no Brasil

De acordo com os dados da TRAD MAP (Trade statistics for international business development) o volume das exportações mundiais de mel foi de 634.249 milhões de toneladas, somando 2.244,696 bilhões de dólares, desses aproximadamente 128.300 mil toneladas, entornando 276.556 milhões de dólares foram movimentados pela China, representando 12,3% das exportações mundiais, seguido da Nova Zelândia (9,2%), Argentina (7,5%), Alemanha (6,5%), Serra Leoa (6,4), Espanha (4,9%), Ucrânia (4,8%), México (4,2%) e Brasil (4,1%).

O Brasil no ano de 2016 exportou 92.030 milhões de dólares em mel se posicionando na 9ª colocação diante das exportações mundiais (TRADMAP, 2018), dos 75,56 milhões de dólares foram exportados para os Estados Unidos da América, seguido dos principais parceiros dos países: Canadá, Alemanha, Reino Unido, França, Bélgica, China e Espanha entre outros. (UNCOMTRADE, 2018). No ano de 2017 as exportações de mel do Brasil foram de 121.298,088 milhões de dólares, representando um aumento de 31,8% em relação ao ano de 2016 (ABEMEL, 2018).

Segundo os dados do IBGE (2018) a produção de mel no Brasil no ano de 2016 foi de 39,59 mil toneladas, ocasionando um aumento de 5,1% em relação ao ano de 2015. As regiões Centro Oeste, Norte, Sudeste e Sul apresentaram um aumento na produção de 7,5%; 4,52%; 6,1% e 21,42% respectivamente, enquanto a região Nordeste teve uma queda de 15,5% entre o ano de 2015 e 2016. Apesar do aumento da região sul, o Estado do Paraná teve uma queda de 4,69% na produção entre 2015 e 2016, e o Rio Grande do Sul um aumento de 26,6% em 2016 em relação ao ano de 2015, apresentando a maior produção nacional.

O município de Ortigueira no Paraná foi o maior produtor nacional com 700 toneladas de mel, seguido por Itatinga em São Paulo com 450 toneladas e Arapoti, localizada no Paraná, com 464 toneladas de mel em 2016. A região centro oriental do estado do Paraná apresentou a maior produção com 1.592 toneladas de mel, seguido da região sudeste com 1.088 toneladas, já a região oeste do Paraná contribuiu com uma produção de 705,8 toneladas de mel, representando 15,6% da produção do Estado do Paraná (IBGE, 2018).

2.2 Histórico da produção de mel na região Oeste do Paraná

A partir de 1946 na região oeste do Paraná começaram a chegar os primeiros colonizadores da região (PERIS e LUGNANI, 2011) esses colonos, sendo sua maioria vindos do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (PRIORI et al., 2012) trouxeram com eles a cultura apícola, entre outras para o estado. Assim, a cadeia produtiva do mel vem se desenvolvendo desde o processo de colonização, em que o mel junto com o açúcar mascavo se tornaram os primeiros produtos industrializados (AMORIM e STADUTO, 2008). No decorrer deste período houve uma reformulação e melhorias do sistema de produção apícola, somado a introdução da subespécie *Apis mellifera scutellata*, desencadeando o processo conhecido como a “africanização” das abelhas melíferas do Brasil (KERR, 1957).

A região oeste do Paraná possui um grande número de pequenas propriedades onde predomina a agricultura familiar, isso devido ao grande número de famílias que se estabeleceram na região durante o processo de colonização (PERIS e LUGNANI, 2011). De acordo com Camargo et al. (2014), 46% da produção de mel da região Oeste do Paraná se subdivide em pequenos apicultores, médios (29%) e grandes produtores (25%).

A partir do ano 1975 se inicia a construção da hidrelétrica binacional de Itaipu, fator que ocasionou modificações em toda a estrutura da região, criando uma grande área de alagamento para a criação do reservatório da hidrelétrica, esse alagamento atingiu um grande número de municípios da região oeste do Paraná e do Paraguai. Desde então, a Itaipu promoveu o plantio de mais de 44 milhões de mudas nas margens brasileiras e paraguaias até os dias de hoje (ITAIPU, 2018b).

Essas áreas de reflorestamento, conhecidas como cinturão verde, apresentam entre 200 a 500 metros de largura, recobrando toda a costa oeste do estado do Paraná. Segundo a Itaipu faltam apenas 2% da área total para ser reflorestada (ITAIPU, 2018b). O projeto de reposição florestal das margens dos rios funciona com um filtro de água para os próprios rios, córregos, riachos e lagos, retendo sedimentos e evitando as erosões (ITAIPU, 2018b).

Nos últimos anos as áreas reflorestadas estão sendo liberadas aos apicultores para eles colocarem seus apiários, conseguindo desenvolver a apicultura nessa região. De acordo com a Itaipu (2018a), ocorreu uma recuperação de 1,6 mil quilômetros de matas ciliares no lago Itaipu, entre Foz do Iguaçu e Guaíra, por meio do programa cultivando água boa que ainda deve ocasionar uma elevação na produção de mel na região, já que foi recriado um ambiente favorável para que as espécies que desapareceram da região voltem a ocupar as áreas de reflorestamento (ITAIPU, 2018a).

2.3 Transformação do néctar em mel

A transformação do néctar tem início quando as abelhas campeiras encontram uma fonte de néctar, uma substância apresentando entorno de 80% de água, 18% de açúcares e aminoácidos, ácidos, proteínas, lipídios, minerais e outros componentes (NICOLSON e THORNBURG, 2007; ROY et al., 2017). O néctar é coletado pelas abelhas e armazenado na vesícula melífera e transportado até a colmeia, onde é regurgitado e realizado o processo de desidratação. Nesse processo conhecido como trofalaxia, o néctar é passado várias vezes entre uma abelha e outra até chegar a um ponto ótimo para serem depositadas nos alvéolos, ocorrendo a maturação chegando ao ponto de mel (BALL, 2007; WHITE JR, 2010).

Nesse processo de trofalaxia as abelhas vão adicionando secreções salivares, principalmente das glândulas hipofaríngeas, que sintetizam principalmente as enzimas invertase, diástase e glicose oxidase (WHITE JR, 2010). O ambiente da colmeia também favorece o processo de evaporação progressiva do restante da umidade presente no mel, reduzindo gradativamente o teor de umidade em até 18%. Após esse processo, os alvéolos serão operculado com cera, para que o processo de maturação se finalize, diminuindo a absorção de umidade devido às características hidrocópicas que o mesmo apresenta, reduzindo os riscos de fermentação (WHITE JR, 2010).

2.4 Parâmetros físico-químicos e qualidade do mel

O mel tem a sua autenticidade dos parâmetros físico-químicos estabelecidos pela regulamentação nacional (BRASIL, 2000) e internacional (CODEX, 2001), que consideram os requisitos máximos e mínimos para a padronização do produto, garantindo uma qualidade e igualdade na comercialização. Os comitês normativos avaliam as propriedades sensoriais como a cor, sabor e aroma e os parâmetros de maturidade, pureza e deterioração do mel.

Na maturidade do mel as normativas avaliam o teor de açúcares redutores, sacarose e umidade, e para a determinação da pureza consideram o teor de cinzas, condutividade elétrica e sólidos insolúveis, e para a deterioração do mel é verificada pela avaliação do conteúdo de hidroximetilfurfural (HMF), acidez e atividade diastásica (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros físico-químicas regulamentadoras nacional e internacional

Parâmetros	BRASIL, 2000	CODEX, 2001
Açúcares redutores	Mínimo de 65%	Mínimo de 60%
Sacarose	Máximo de 6%	Máximo de 5%
Umidade	Máximo de 20%	Máximo de 20%
Sólidos insolúveis	Máximo 0,1 %	Máximo 0,1 %
Cond. Elétrica	-----	Máximo 0,8 mS/cm
Cinzas	Máximo de 0,6%	-----
Acidez livre	Máximo 50 mEq/Kg ⁻¹	Máximo 50 mEq/Kg ⁻¹
HMF	Máximo 60 mg/Kg ⁻¹	Máximo 40 mg/Kg ⁻¹
Atividade diastásica	Mínimo de 8 Göthe	*Mínimo de 8 Göthe

*Tolera-se 3 se o HMF for menor que 15 mg.Kg⁻¹

Em geral, a composição do mel apresenta carboidratos (quantidade média de 82,3%), água (17,2%), substâncias nitrogenadas (0,3%) e minerais (0,03-1%), com a presença adicional de vitaminas, ácidos orgânicos, compostos aromáticos, bioativos e conteúdo enzimático (BAGLIO, 2018). Esses fatores não são estáveis e podem variar de amostra para amostra e também dependendo da origem botânica e geográfica de onde se produziu o mel (KARABAGIAS et al., 2017).

Umidade: o mel naturalmente possui certa quantidade de água remanescente do processamento e armazenamento do néctar na forma de mel nos favos. Os favos de mel operculado pelas abelhas apresentam em torno de 17-18% de umidade. Essa concentração depende de vários fatores como, condições climáticas, o tipo do néctar coletado e o teor de umidade do mesmo, assim como o tempo de maturação do mel na colmeia.

O teor de umidade também pode ter influência do manejo aplicado pelo apicultor durante a coleta do mel, principalmente quando ele é coletado em dias chuvosos, graças a sua alta hidrosopicidade, a absorção de umidade é favorecida, assim como a coleta de favos de mel ainda com opérculos aberto em processo de desidratação, além de sofrer modificações com o tempo e processo de armazenamento antes e depois da extração. Crane (1985) ressaltou que se a umidade relativa do ar (UR) for de 60%, as amostras de mel que contenham menos de 18,3% de água, ou níveis superiores, perderão umidade para o ar, porém se a UR for de 65%, o mel com 18,3% de umidade absorverá umidade chegando a 20,9%.

O conhecimento do teor de umidade é umas das características mais importantes do mel, já que ele influencia as propriedades físico-químicas como a viscosidade, densidade, peso específico, a maturidade, cristalização, sabor e a palatabilidade do mesmo (MARCHINI et al., 2004). Nas normativas vigentes a quantidade máxima de umidade não pode ser superior a 20%

(BRASIL, 2000; CODEX, 2001), com algumas exceções como o mel de Urze (*Calluna*) que é permitido até 25% (CODEX, 2001).

Cor: Fator principal para a comercialização do mel, devido ao seu aspecto visual que define a qualidade, aceitação e a preferência perante os consumidores. A cor, o aroma e o sabor do mel são caracterizados pela origem botânica coletada pelas abelhas, podendo também apresentar variações dependendo do manejo adotado pelo apicultor, em que os favos de mel da primeira safra apresentam cores mais claras do que em favos de ceras escuras (CRANE, 1985; EL-KAZAFY e SAMIR, 2007).

Muitos estudos indicaram uma correlação entre a cor e o teor de minerais do mel (SILVA et al., 2016). De acordo com Nascimento et al. (2018) e Lacerda et al. (2010), as cores claras apresentaram menor teor de cinza em relação às cores escuras, e a cor do mel frequentemente é avaliada em milímetros de acordo com a escala Pfund (Tabela 2).

O escurecimento do mel pode ocorrer durante um prolongado tempo de armazenamento, o qual pode ser catalisado pelo aquecimento, iniciando as reações de Maillard (SILVA et al., 2016) que, por sua vez, ocasionam reações entre os açúcares do mel, principalmente na frutose com os aminoácidos livres, mais o ambiente ácido do mel, o que propicia a formação de pigmentos marrons. O escurecimento também pode ser pelas reações dos compostos fenólicos com o ferro, seja natural ou liberados a partir de recipientes ou equipamentos de processamentos, contribuindo para o seu escurecimento (WHITE JR, 2010).

Tabela 2. Classificação do mel segundo a escala de cores de Pfund

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

Fonte: Marchini et al. (2004)

pH e acidez livre: esses parâmetros são importantes durante a centrifugação e armazenamento do mel, eles podem influenciar a estabilidade, textura e a sua vida útil de prateleira (BOUSSAID et al., 2018). De acordo Bogdanov et al. (2009), esses parâmetros indicaram o nível de frescura e a deterioração do mel.

As normativas vigentes Brasil (2000) e Codex (2001), não indicaram uma faixa de pH ideal para o mel, entretanto na literatura encontra-se valores entre 2,6 a 4,6, com uma média de

3,9 (MARCHINI et al., 2004). Os baixos valores de pH ajudam a inibir o desenvolvimento microbiano, isso devido à presença de vários ácidos orgânicos, sendo o principal o ácido glucônico, derivado da dextrose e levulose produzido pelas reações da enzimas da glicose-oxidase (WHITE JR, 2010). Estes ácidos são obtidos diretamente do néctar ou derivados pela atividade da enzima sintetizada pelas abelhas na transformação do néctar em mel. De acordo com as normativas Brasil (2000) e Codex (2001), os valores máximos de acidez livre é de 50,00 mEq/kg⁻¹.

Cinzas e condutividade elétrica: o teor de cinza é o parâmetro que apresenta a quantidade de minerais presente no mel. Embora o Comitê do Codex (2001), não forneça um valor padrão para esse parâmetro. A Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000 permite no máximo 0,6% no mel e no melato ou mel de melato e suas misturas com mel floral, tolera-se até 1,2%. O mineral que se encontra em maiores quantidades no mel é o potássio (K) de acordo com Bogdanov (2015), contendo também sódio (Na), cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), zinco (Zn), ferro (Fe), cobre (Cu), manganês (Mn) e selênio (Se).

A condutividade elétrica do mel está ligada diretamente com as substâncias ionizáveis capazes de conduzir corrente elétrica que ele possui. Quanto maior o teor de ácidos e minerais, maior será a condutividade elétrica (SILVA et al., 2016). Como este parâmetro está diretamente relacionado ao conteúdo de cinzas foi incluído nos padrões do Codex (2001), substituindo a determinação da cinza do mel, uma vez que ele apresenta grande correlação entre os dois parâmetros (BOGDANOV et al., 2004).

Hidroxiacetilfurfural (HMF): é um sinal de frescor do mel. Este composto é praticamente ausente no mel recém-extraído, aumentando proporcionalmente com o tempo de armazenamento do mel e se submetido a um tratamento térmico ou armazenado em ambiente com elevadas temperaturas (SUBRAMANIAN et al., 2007).

De acordo com as normativas o teor de hidroxiacetilfurfural do mel após o processamento ou a mistura, não deve ser superior a 60 mg/kg⁻¹ (BRASIL, 2000) e de 40 mg/kg⁻¹ (CODEX, 2001). No entanto, no caso do mel de origem declarada proveniente de países ou regiões com temperaturas ambiente tropicais, o teor de HMF não deve ser superior a 80 mg/kg¹.

Proteínas: o mel apresenta um baixo teor de compostos nitrogenados, contendo entorno de 0,1 e 3,3% de proteínas, enzimas e aminoácidos livres (SILVA et al., 2016). As proteínas e os aminoácidos presentes nele vêm dos grãos de pólen transportados pelas abelhas durante a polinização (JONES e JONES, 2001). A sua proporção relativa está relacionada com a origem botânica (AHMED et al., 2018), já as substâncias proteicas também são representadas por enzimas, entre as quais estão a glicose-oxidase, a invertase e a amilase produzidas pelas

glândulas salivares e hipofaríngeas das abelhas operárias (SANTOS-BUELGA E GONZÁLEZ-PARAMÁS, 2017).

Açúcares: a alta concentração de açúcares do mel contribui para caracterizar as suas propriedades físicas-químicas, como viscosidade, hidrosopicidade, estado físico, valor energético e poder adoçante (WHITE JR, 2010). Os principais monossacarídeos do mel, são frutose (32-44%) e glicose (23-38%) caracterizados como açúcares redutores, nele também está incluso uma variedade de polissacarídeos em pequenas quantidades (5-15%) como, maltose, sacarose, turanose, trealose, gentiobiose, isomaltose, lactose, entre outros. (MACHADO DE-MELO et al., 2018). Contudo o teor de sacarose não pode ultrapassar os 5% determinado pelo comitê CODEX (2001) e de 6% pelo o regulamento técnico Brasil (2000).

A quantidade de sacarose é um parâmetro muito importante na avaliação da maturidade do mel. O teor de sacarose é analisado para identificar qualquer manipulação imprópria do mel. Os altos níveis podem indicar adulterações como, a adição de açúcares baratos, como açúcar de cana ou glicose de milho, também pode ser um indicativo de colheita precoce do mel, em que a sacarose não foi completamente transformada em glicose e frutose pela ação da enzima invertase, isso pode ocorrer devido a um alto fluxo de néctar ou alimentação artificial prolongada de abelhas com xaropes de sacarose (SILVA et al., 2016). Os valores elevados de sacarose no mel estão relacionados com a origem botânica, como o mel de lavanda (*Lavandula* spp.) e de borracha (*Borago officinalis*) que podem conter até 15% de sacarose (CODEX, 2001).

2.5 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Várias revisões de literatura indicaram a presença do conteúdo dos compostos fenólicos, como ácidos fenólicos e flavonoides no mel (SILVA et al., 2016; MACHADO DE-MELO et al., 2018; LUCHESE et al., 2017; ARMED et at., 2018 e NUGRAHENI E ERSAM, 2018). Esses autores apontaram que diferentes de outros adoçantes o mel possui atividade antioxidante que fornece vantagens nutricionais, terapêuticas e tecnológicas ao mesmo.

De acordo com Bogdanov (2015), os compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides), assim como a melanoidinas (produto da reação de Maillard) são os principais constituintes responsáveis pela atividade antioxidante do mel. Além destes fatores, Machado de-Melo et al. (2018) relataram que o mel possui fatores intrínsecos a ele, como as enzimas glicose-oxidase, a catalase e outros compostos como, carotenoides, ácidos orgânicos, ácido ascórbico, aminoácidos e proteínas conferindo atividade antioxidante próprias.

Santos-Buelga e González-Paramás (2017), mencionaram que os compostos fenólicos são um dos maiores grupos metabólicos secundários das plantas, biossintetizados principalmente para proteção contra o estresse biótico, abiótico e danos oxidativos, sendo transferidos das plantas para o mel pelas abelhas. Baglio (2018) relatou que os principais ácidos fenólicos isolados no mel foram: ácido cafeico, cumarico, ferulico, elágico, clorogênico e gálico; também as seguintes moléculas de flavonoides: quercetina, hesperetina, crisina, pinocembrina, luteolina, apigenina, miricetina e campeferol.

Ahmed et al. (2018) discutiram que o mel vem sendo utilizado em diversas pesquisas, investigando o efeito sobre doenças em animais e humanos, esses autores ainda expuseram que o mel apresenta atividades anti-inflamatórias, antibacterianas, antivirais, antifúngica, antiviral, antitumoral entre outros efeitos. Além disso, melhora o estado imunológico, oferecendo um apoio a sua atividade anticancerígena, possuindo efeitos comprovados contra o câncer de mama, colorretal, renal, próstata, cervical e oral.

Kaškonienė e Venskutonis (2010), afirmaram que, devido os compostos fenólicos serem passados das plantas para o mel, cada mel apresenta um perfil devido a sua origem floral coletada pelas abelhas, indicando diferenças entre regiões, assim como fatores sazonais e ambientais. Os autores demonstram que esses compostos fenólicos estão sendo estudados e isolados, o que vem conferindo marcadores florais para o mel de origem monofloral e também de algumas determinadas regiões.

2.6 Microrganismos no mel

O mel é uma solução saturada de açúcar obtido a partir do néctar, que sofre um processo de desidratação até 15 a 18% de umidade. Esta alta concentração de carboidrato limita a quantidade e a atividade da água para o microrganismo, impossibilitando o seu desenvolvimento, a sua multiplicação, levando a sua senescência até a sua mortalidade (WEN et al., 2017).

Outros fatores antimicrobianos do mel são o baixo teor de proteína, de acidez e reduzido potencial de oxidação-redução junto com a alta viscosidade que limita a entrada de oxigênio no mel. Além desses, alguns autores relataram a quantidade de peróxido de hidrogênio e a presença de compostos bioativos de plantas no mesmo (SILVA et al., 2016).

Entre as substâncias inibitórias destaca a enzima glicose-oxidase, que é responsável pela estabilização do mel, atuando mesmo em um pH entre 5,5 e 8,0, ativada quando o mel é diluído. Na presença de água e oxigênio a enzima oxida a D-glicose com a formação de peróxido de

hidrogênio (H_2O_2) e gluconolactona, que é hidrolisada para o ácido glucónico (BOGDANOV et al., 2008).

Alguns microrganismos podem sobreviver no mel mesmo com o inúmeros fatores antimicrobianos, segundo Snowdon e Cliver (1996), no mel são encontrados quatro grupos de microrganismos: microrganismo comumente encontrado no mel, como algumas leveduras e bactérias formadoras de esporos; microrganismo que indicam qualidade sanitária ou comercial, como coliformes e leveduras; microrganismo que crescem em condições de germinação, em produtos alimentícios que não foram tratados termicamente e microrganismos causadores de doenças em abelhas, podendo ser encontrado no mel.

Esses autores classificaram as fontes de contaminação em primária e secundária: as fontes primárias de microrganismo presentes no mel são derivados da coleta de pólen e néctar, do comportamento de forrageamento das abelhas e microrganismo presente no ar, na poeira e nas flores. Naturalmente no mel se encontra microrganismos, embora se a contagem estiver muito alta é um indicativo de contaminação secundária que, geralmente, são as mesmas para os mais diferentes alimentos.

A rota de contaminação do mel tem início no manejo que o apicultor executa durante a coleta dos favos de mel na colmeia, no transporte do apiário até a sala de extração, dentro da casa do mel, durante todo o manuseio do mel, assim como na higienização da casa do mel, dos equipamentos, instrumentos de manipulação, na qualidade da água para a higienização e na sanidade dos manipuladores (FERNÁNDEZ et al., 2017).

2.7 Referências

- ABEMEL. **Associação Brasileira de Exportadores do Mel Setor Apícola Brasileiro em Números**. [2018]. Disponível em: <<http://brazilletsbee.com.br>>. Acesso em 11 janeiro de 2018.
- AHMED, S.; SULAIMAN, S.A.; BAIG, A.A. et al. Honey as a Potential Natural Antioxidant Medicine: An Insight into Its Molecular Mechanisms of Action. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, n. 8367846, p. 1-19, 2018.
- AMORIM, L.S.B.; STADUTO, J.A.R. Desenvolvimento territorial rural: a agroindústria familiar no oeste do Paraná. **Revista de Economia Agrícola**, v. 55, n. 1, p. 15-29, 2008.
- ARNHOLD, E. A. **Caracterização físico-química, sensorial e botânica de amostras de mel de *Apis mellifera* da região Oeste do Paraná, Ortigueira-PR e Palmeira das Missões-RS**; 2016. 84f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- BAGLIO, E. **Chemistry and Technology of Honey Production**. Palermo: Springer nature, 2018.
- BALL, D.W. The chemical composition of honey. **Journal of Chemical Education**, v. 84, n. 10, p. 1643, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial**, Brasília, 20 de outubro de 2000, Seção 1, p. 16-17.
- BARTH, O.M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 3, p. 342-350, 2004.
- BOGDANOV, S.; RUOFF, K.; ODDO, L.P. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. **Apidologie**, v. 35, n.1, p. S4-S17, 2004.
- BOGDANOV, S.; JURENDIC, T.; SIEBER, R. et al. Honey for nutrition and health: a review. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 27, n. 6, p. 677-689, 2008.
- BOGDANOV, S. Harmonized methods of the International Honey Commission. **International Honey Commission**, p. 1-61, 2009.
- BOGDANOV, S. Honey as nutrient and functional food: A review. **Bee Product Science**, v. 1, p. 1-28, 2015.
- BOUSSAID, A.; CHOUAIBI, M.; REZIG, L. et al. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, n. 2, p 265-274, 2018.
- CAMARGO, S.C.; GARCIA, R.C.; FEIDEN, A. et al. Implementation of a geographic information system (GIS) for the planning of beekeeping in the west region of Paraná. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 2, p. 955-971, 2014.

- CODEX, A. Codex standard 12. Revised Codex Standard for Honey, **Standards and Standard Methods**, v. 11, 2001.
- CRANE, E. O livro do mel. **São Paulo: Nobel**, 1985.
- CUNHA, F. **Mel de *Apis mellifera* como bioindicador de resíduos de pesticidas**. 2016. 61f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- EL-KAZAFY, A.T.; SAMIR, Y.A. Effect of combs age on honey production and its physical and chemical properties. **Bulletin of the Entomological Society of Egypt**, v. 11, p. 9-18, 2007.
- FERNÁNDEZ, L.A.; GHILARDI, C.; HOFFMANN, B. et al. Microbiological quality of honey from the Pampas Region (Argentina) throughout the extraction process. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 49, n. 1, p. 55-61, 2017.
- FERREIRA, M.G.; ABSY, M.L. Pollen niche of *Melipona (Melikerria) interrupta* (Apidae: Meliponini) bred in a meliponary in a terra-firme forest in the central Amazon. **Palynology**, v. 42, n. 2, p. 199-209, 2018.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa da Pecuária Nacional**. [2016]. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/74#resultado>> Acesso em: 09/02/2018.
- INPI - INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. **Revista da Propriedade Industrial**, nº 2426, 04 de julho de 2017. 42p.
- ITAIPU. **Cooperativa quer triplicar produção de mel em três anos**. Disponível em: <<https://www.itaipu.gov.br/sala-de-imprensa/noticia/cooperativa-quer-triplicar-roducao-de-mel-em-tres-anos?page=180>>. Acesso em: 13 de fev. 2018a.
- ITAIPU. **Gestão por bacias: territorialidade definida pela própria natureza**. Disponível em: <<http://www.cultivandoaguaboa.com.br/acao/nivel-1/gestao-por-bacias>>. Acesso em: 15/01/2018b.
- JONES, G.D.; JONES, S.D. The Uses of Pollen and its Implication for Entomology. **Entomology Neotropical**, v. 30, n. 3, p. 314-349, 2001.
- KARABAGIAS, L.; LOUPPIS, A.P.; KARABOURNIOTI, S. et al. Characterization and classification of commercial thyme honeys produced in specific Mediterranean countries according to geographical origin, using physicochemical parameter values and mineral content in combination with chemometrics. **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 5, p. 889-900, 2017.
- KAŠKONIENĖ, V.; VENSKUTONIS, P.R. Floral markers in honey of various botanical and geographic origins: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 6, p. 620-634, 2010.

- KERR, W.E. Introdução de abelhas africanas no Brasil. **Brasil Apícola**, v. 3, n. 5, p. 211-213, 1957.
- LACERDA, J.J.D.J.; SANTOS, J.S.D.; SANTOS, S.A.D. et al. Influence of physicochemical and elemental composition on honey colors produced by *Apis mellifera* in southwest Bahia using multivariate analysis. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p. 1022-1026, 2010.
- LUCHESE, R.H.; PRUDÊNCIO, E.R.; GUERRA, A.F. Honey as a Functional Food. In: Toledo, V.A.A. **Honey Analysis**. London: IntechOpen, 2017. p. 287-307.
- MACHADO DE-MELO, A.A.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.D.; SANCHO, M.T. et al. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 1, p. 5-37, 2018.
- MARCHINI, L.C.; SODRÉ, G. D.S.; MORETI, A.C.D.C.C. **Mel brasileiro: composição e normas**. Riberão Preto: A.S. Pinto, 2004.
- MORAES, F.J. **Caracterização físico-química e palinológica de amostras mel de abelha africanizada dos municípios de Santa Helena e Terra Roxa (PR)**; 2012. 53f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- MORAES, F.J.; GARCIA, R.C.; VASCONCELOS, E. et al. Physicochemical parameters of honey from samples from africanized honeybees in Santa Helena and terra roxa counties (PR). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 4, p. 1269-1275, 2014.
- NASCIMENTO, K.S.; SATTler, J.A.G.; MACEDO, L.F.L. et al. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **Food Science and Technology**, v. 91, n. 2018, p. 85-94, 2018.
- NICOLSON, S.W.; THORNBURG, R.W. Nectar chemistry. In: NICOLSON, S.W.; NEPI, M.; PACINI, E. **Nectaries and Nectar**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 215-264.
- NUGRAHENI, Z.V.; ERSAM, T. Bioactive compounds and their health effects from honey processing industries. In: Anal, A.K. Hoboken: John Wiley & Sons. **Food Processing By-Products and Their Utilization, First**, 2018, p. 309-322.
- PERIS, A.F.; LUGNANI, A.C. Um estudo sobre o eixo Cascavel–Foz do Iguaçu na região oeste do Paraná. **Revista Paranaense de Desenvolvimento**, n. 104, p. 79-102, 2011.
- PRIORI, A.; POMARI, L.R.; AMÂNCIO, S.M.; IPÓLITO, V.K. et al. História do Paraná: séculos XIX e XX. In: **A história do Oeste Paranaense**. Maringá: Eduem, 2012. p.75-89.
- RADTKE T.H. **Análise físico-química de mel de *Apis mellifera* do Oeste do Paraná – safra 2015-2016**. 2016. 33f. Monografia (Graduação em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- ROY, R.; SCHMITT, A.J.; THOMAS, J.B.; CARTER, C.J. et al. Nectar biology: from molecules to ecosystems. **Plant Science**, v. 262, p. 148-164, 2017.

- SANTOS-BUELGA, C.; GONZÁLEZ-PARAMÁS, A.M. Chemical and biological properties. In: Alvarez-Suarez, J.M. **Bee Products-Chemical and Biological Properties**. Cham: Springer nature, 2017. p. 43-82.
- SEKINE, E.S.; TOLEDO, V.A.A.; CAXAMBU, M.G. et al. Melliferous flora and pollen characterization of honey samples of *Apis mellifera* L., 1758 in apiaries in the counties of Ubiratã and Nova Aurora, PR. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 1, p. 307-326, 2013.
- SILVA, P.M.; GAUCHE, C.; GONZAGA, L.V. et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309-323, 2016.
- SNOWDON, J.A.; CLIVER, D.O. Microorganisms in honey. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, n. 1-3, p. 1-26, 1996.
- SUBRAMANIAN, R.; UMESH HEBBAR, H.; RASTOGI, N. K. Processing of honey: a review. **International Journal of Food Properties**, v. 10, n. 1, p. 127-143, 2007.
- TRADE MAP. **List of exporters for the selected product in 2016 product: 0409 natural honey.** Disponível em: <https://www.trademap.org/Country_SelProduct.aspx?nvpm=1||||0409|||4|1|1|2|1|1|2|1|>>. Acesso em: 15/01/2018.
- UNCOMTRADE. **HS1992 Product natural honey.** Disponível em: <<https://comtrade.un.org/db/dqBasicQueryResults.aspx?cc=0409&px=H0&r=76&y=2016>>. Acesso em: 15/01/2018.
- WEN, Y.; WANG, L.; JIN, Y.; et al. The microbial community dynamics during the Vitex honey ripening process in the honeycomb. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1-12, 2017.
- WHITE, J.W. Honey. In: GRAHAM, J.M. **The hive and the honeybee**. Hamilton: Dadant & Sons, 9th ed, 2010. p. 869-925.

3 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS AFRICANIZADAS DE MUNICÍPIOS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, SUL DO BRASIL

Resumo: Neste estudo, foi realizada a avaliação da qualidade higiênico-sanitária e microbiológica de 67 amostras de mel produzidas por *Apis mellifera*, de 14 municípios do Oeste do Estado do Paraná, Sul do Brasil. As amostras foram coletadas no período de outubro de 2016 a março de 2017. A qualidade microbiológica foi avaliada pela contagem de coliformes a 35°C, a 45°C, bactérias aeróbias mesófilas, *Clostridium* spp., contagem total de mofo e leveduras. Foram calculados os valores mínimos e máximos, medianas, médias e quartis. O emprego do escalonamento não métrico multidimensional (NMDS) foi utilizado para testar a similaridade dos parâmetros entre diferentes amostras de mel. A qualidade microbiológica das amostras de mel analisadas, apesar da presença de coliformes a 35°C, a 45°C, bactérias aeróbias mesófilas, *Clostridium* spp., mofo e leveduras, apresentam valores adequados para consumo humano. Foram identificados cinco gêneros: *Cladosporium* spp., *Phoma* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp., comumente encontrados no mel. As análises apresentaram a formação de dois grupos, ocorrendo um grande grupo com 64 amostras comportando-se de modo semelhantes em relação a todos os parâmetros e um pequeno grupo isolado, destacando os valores de coliformes totais. Os resultados também indicaram uma heterogeneidade na microbiológica das amostras. Apesar das análises microbiológicas não serem obrigatórias para o mel, esses resultados demonstraram que a qualidade higiênico-sanitárias das amostras de mel estão em conformidade com a resolução RDC-12, 2001, sobre requisitos microbiológicos em alimentos no Brasil.

Palavras-chave: denominação de origem, *Escherichia coli*, mofo filamentosos, segurança higiênica, NMDS

3 MICROBIOLOGICAL QUALITY OF HONEY SAMPLES FROM AFRICANIZED HONEYBEES FROM MUNICIPALITIES OF THE WEST REGION OF PARANÁ, SOUTH OF BRAZIL

Abstract: In this study, the hygienic-sanitary and microbiological quality evaluation of 67 honey samples produced by *Apis mellifera*, of 14 municipalities in the west of the State of Paraná. The samples were collected from October 2016 to March 2017. Microbiological quality was evaluated by counting coliforms at 35°C, at 45°C, mesophilic aerobic bacteria, *Clostridium* spp., Total counts of molds and yeasts. The minimum and maximum values, medians, means and quartiles were calculated. The use of multidimensional non-metric scaling (NMDS) was used to test the similarity of the parameters between different samples of honey. The microbiological quality of honey samples analyzed in spite of the presence of coliforms at 35°C, at 45°C, mesophilic aerobic bacteria, *Clostridium* spp., molds and yeasts presented adequate values for human consumption. Five genus were identified: *Cladosporium* spp., *Phoma* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. and *Penicillium* spp., commonly found in honey. The analysis presented the formation of two groups, with a large group with 64 samples behaving similarly to all parameters and a small isolated group, highlighting the total coliform values. The results also indicated a heterogeneity in the microbiological samples. Although microbiological analyzes were not mandatory for honey, these results demonstrated that the hygienic-sanitary quality of the honey samples are following Resolution RDC-12, 2001, on microbiological requirements in food in Brazil.

Key words: *Escherichia coli*, Filamentous fungi, hygienic safety, NMDS

3.1 Introdução

O mel é um alimento natural produzido pelas abelhas melíferas, principalmente a *Apis mellifera*, através do processo de desidratação e adição de enzimas ao néctar das flores, secreções de partes vias das plantas ou de secreções de insetos sugadores de plantas. Apresentando em sua composição a predominância de frutose e glicose (CODEX, 2001).

O mel apresenta variação do sabor e aroma dependendo da origem flora, clima e as condições ambientais, o que favorece o mel do Brasil, pois o país apresenta uma vasta área geográfica com grande diversidade de espécies melíferas para produção apícola (BARTH, 2004; SEKINE et al., 2013; FERREIRA e ABSY, 2017; NASCIMENTO et al., 2018).

O mel é considerado um alimento seguro contra os microrganismos naturalmente, pois apresenta vários fatores antimicrobianos que não favorecem a sobrevivência e o crescimento de microrganismos. Tais fatores intrínsecos ao mel, como seu baixo teor de pH, reduzida atividade de água e a alta concentração de carboidratos, ocasionando um baixo potencial de redução do mel e uma viscosidade que limita a entrada de oxigênio, contribuindo para a sua estabilidade (MOLAN et al., 1997).

Por tanto espera-se que apenas um número limitado de microrganismos sobreviva no mel. Eventualmente é encontrado no mel leveduras, mofos e algumas bactérias formadoras de esporos (SNOWDON E CLIVER, 1996). Esses microrganismos cujas as fontes são o pólen e o néctar coletados pelas abelhas, fatores relacionados ao trato digestivo de abelhas e ambientais como poeira, ar e solo (KAČÁNIOVÁ et al., 2009, ANDERSON et al., 2013; CORBY-HARRIS et al., 2014; WEN et al., 2017). Também as contaminações secundárias, decorrentes da higiene dos manipuladores do mel, da casa de mel, dos equipamentos e da estrutura física (FERNANDEZ et al., 2017).

Embora a análise microbiológica do mel não seja exigida como análise de rotina pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), a análise reforça a segurança alimentar do produto, além de auxiliar no diagnóstico de possíveis falhas higiênico-sanitárias no manejo das colônias e manipulação do produto. No intuito de contribuir com a cadeia produtiva do mel, objetivou-se verificar a qualidade microbiológica do mel produzido e entregue por apicultores associados a Cooperativa Agrofamiliar Solidária dos Apicultores da Costa Oeste do Paraná (COOFAMEL).

3.2 Material e Métodos

Ao todo foram analisadas 67 amostras de mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.), provenientes de apicultores associados a COOFAMEL de 14 municípios da região oeste do Paraná: Santa Helena (n=28), Missal (n=7), Terra Roxa (n=7), Marechal Candido Rondon (n=6), Diamante do Oeste (n=5), Corbéia (n=2), Entre Rios do Oeste (n=2), Matelândia (n=2), Toledo (n=2), Francisco Alves (n=1), Itaipulândia (n=1), Palotina (n=1), Ramilândia (n=2) e uma de São José das Palmeiras (Figura 1).

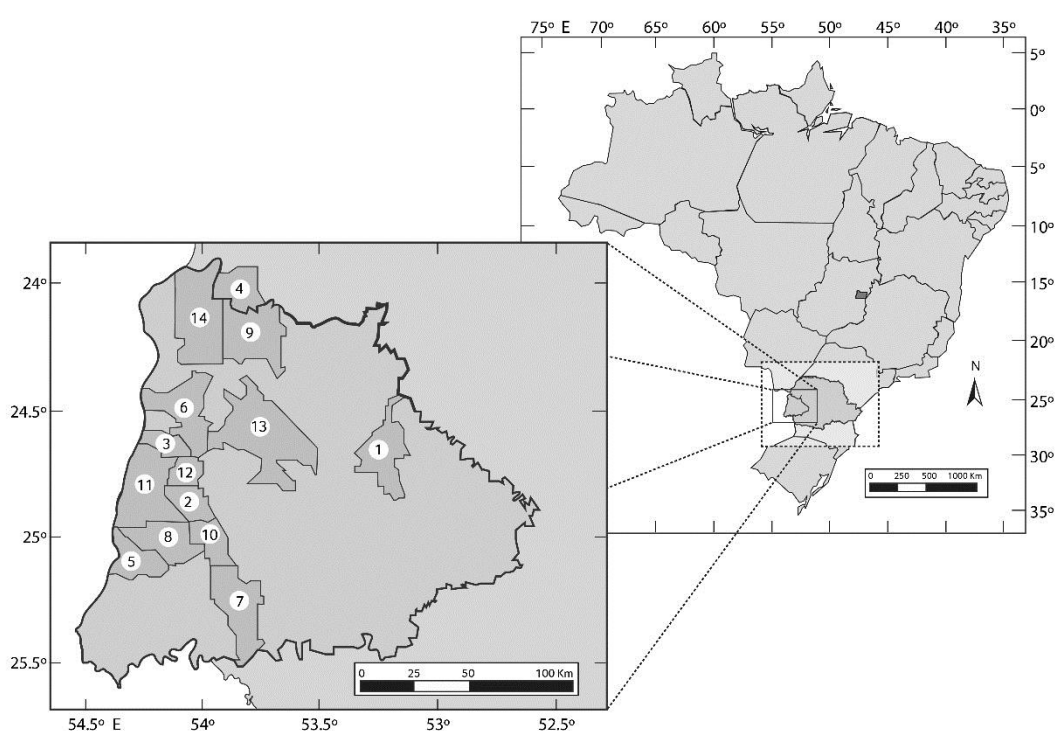


Figura 1. Mapa de localização da área de estudo: (à direita) posição do Estado do Paraná no Brasil; (à esquerda) mostra em destaque os municípios de amostragem na região Oeste do Paraná. (1 - Corbéia, 2 - Diamante do Oeste, 3 - Entre Rios do Oeste, 4 - Francisco Alves, 5 - Itaipulândia, 6 - Marechal Candido Rondon, 7 - Matelândia, 8 - Missal, 9 - Palotina, 10 - Ramilândia, 11 - Santa Helena, 12 - São José das Palmeiras, 13 - Toledo e 14 - Terra Roxa).

Todas as amostras foram coletadas pelos produtores no período de outubro de 2016 a março de 2017, representando a safra 2016/2017 e posteriormente entregues à cooperativa. A amostragem ocorreu de forma separada por produtor e período, utilizando embalagens plásticas transparentes com tampa de rosca e com capacidade para 500 g. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente, sem serem submetidas a pasteurização, filtração e mistura de

diferentes amostras de mel. As amostras foram transferidas quinzenalmente para a Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE e armazenadas entre 6 a 8°C, em ambiente escuro no laboratório de Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias no campus de Marechal Cândido Rondon – PR, até o momento das análises.

3.2.1 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no período de outubro de 2016 a março de 2017, no máximo de 24 a 72 horas após a coleta das amostras na Cooperativa para que não houvesse interferência do tempo de armazenamento sobre a contagem microbiológica.

Foram realizadas as seguintes análises microbiológicas: contagem de coliformes a 35°C (NMP.g⁻¹), contagem de coliformes termotolerantes a 45°C (NMP.g⁻¹), contagem de mofos e leveduras (UFC.g⁻¹), contagem total de *Clostridium* spp. (UFC.g⁻¹) e total dos microrganismos aeróbios mesófilos (UFC.g⁻¹), segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução Normativa SDA nº 62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003). Para as avaliações seguiu-se método propostas por Silva et al. (1997) e Sereia et al. (2017).

Uma alíquota de 25,0 g de cada amostra de mel foi pesada em balança analítica, para preparação da primeira diluição (10⁻¹) em 225,0 mL de água destilada e esterilizada. A partir da diluição inicial (10⁻¹) as demais diluições seriadas (10⁻² e 10⁻³) foram preparadas utilizando tubos de ensaio contendo 9,0 mL de água destilada e esterilizada. Essa solução foi utilizada para todas as análises microbiológicas.

O procedimento utilizado para detecção de coliformes foi sugerido pela Food and Drug Administration e recomendado pelo Ministério da Agricultura para análise de alimentos de origem animal, segundo Instrução Normativa número 62, de 26 de agosto de 2003 que consiste no uso do método do Número Mais Provável (NMP). O método do Número Mais Provável (NMP) consiste em uma análise estimativa fundamentada em probabilidade e indica o Nº estimado de microrganismos presente dentro de uma faixa. O número de microrganismos foi determinado pelo uso de tabelas de NMP, que a partir dos dados obtidos calculou-se o Número Mais Provável de coliforme a 35°C e 45°C por grama de mel.

A técnica consiste de três etapas, uma prova presuntiva para coliformes a 35°C, ou coliformes totais, uma prova confirmativa para coliformes a 35°C e outra confirmativa para coliformes termotolerantes (45°C) e *Escherichia coli*. A prova presuntiva para coliformes 35°C foi realizada inoculando 1,0 mL das diluições 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³ em caldo (Lauril Sulfato de Sódio), contendo lactose por 24 às 48h a 36°C. Os tubos de Duran que apresentavam formação

gasosa na prova presuntiva, foram inoculados 1,0 mL de cada tudo positivo em caldo (Verde Brilhante Bile Lactose 2%) e incubados a 35(±) 0,5°C, durante 24 a 48 horas.

A prova confirmativa para coliformes a 45°C foi realizada com a inoculação 1,0 mL dos tubos positivos da prova presuntiva para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC) e incubando cerca de 24h a 44,5°C sob agitação constante.

Para contagem total dos microrganismos aeróbios mesófilos utilizou-se o meio padrão (Plate Count Agar – Himedia). Após semeadura por superfície (1 mL das respectivas diluições decimais) as placas foram incubadas invertidas a 36°C por 48 horas e após esse período as placas foram retiradas da estufa e determinou-se o número de unidades formadoras de colônia (UFC.g⁻¹)

Para contagem de *Clostridium* spp., utilizou-se o meio de cultura padrão (Reinforced Clostridial Agar - Kasvi). Após semeadura por superfície (1 mL das respectivas diluições decimais) as placas foram incubadas invertidas em estufa bacteriológica com sistema de gás carbônico a 35°C, por 24 horas. Após esse período as placas foram retiradas da estufa e foi realizada a contagem do número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC.g⁻¹).

Para contagem de mofos e leveduras, 1,0 mL das diluições seriadas foi semeado em superfícies, utilizando o meio de cultura (Potato Dextrose Agar - Acumedia) acidificado com ácido tartárico 10% até pH 3,5 e adição de 1 g L⁻¹ antibiótico (BenzilPenicilina), para inibir o crescimento de bactérias. A incubação das placas invertidas se deu em estufa bacteriológica a 28°C durante sete dias. Após esse período as placas foram retiradas da estufa e determinou-se o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC.g⁻¹). Após o período de incubação os microrganismos foram contados utilizando um contador de colônias tipo Quebec (CP608 - PHOENIX) e transformados para log₁₀.

Após sete dias de crescimento dos mofos foram realizados registros fotográficos e descritivos das características macroscópicas de cada mofo por amostras. Devido à identificação visual dos mofos serem muito subjetivas, apresentando uma diversidade de formas, cores e texturas, dificultando a sua identificação, foi realizada a identificação a nível de gênero das colônias de mofos filamentosos, segundo a preparação de lâminas, que consiste em retirar do rebordo da colônia, grãos de esporos e coloca-los entre uma lâmina e lamínula com uma gota de azul de algodão (NASSER, 2004).

Após a montagem das lâminas foram realizadas observações microscópicas das estruturas morfológicas, como septação do micélio, conídios, denominados conidióforos e o tipo de conídios, para a determinação do gênero (SILVA et al., 1997).

3.2.2 Análise estatística

Calculou-se os valores mínimos e máximos, medianas, médias e quartis para as comunidades microbiológicas. Os dados das variáveis foram analisados por análise fatorial multivariada. O emprego do escalonamento multidimensional não-métrico (multidimensional Nonmetric multidimensional scaling = NMDS) foi utilizado para testar as diferenças na composição da comunidade microbiana entre as diferentes amostras de mel. Posteriormente foi empregada a distância euclidiana com os dados normalizados, utilizando o comando "metaMDS" para gerar processos aleatórios e interativos, visando encontrar a melhor solução possível. O valor do ajuste medido do NMDS foi avaliado pelo valor do estresse. Para a estimativa do ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma gerado calculou-se o coeficiente de correlação cofenética (ESTEVINHO et al., 2016). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software R, versão 3.0.2.

3.3 Resultados e Discussão

Os dados referentes à quantidade dos microrganismos aeróbios mesófilos, *Costridium* spp., coliformes totais, coliformes termotolerantes, leveduras e mofos totais e as suas medidas: mínimo, máximo, mediana, primeiro quartil, terceiro quartil e as médias estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Análises microbianas de amostras de mel do oeste do Estado do Paraná, Sul do Brasil

Parâmetros	%	Mínimo	Máximo	Mediana	Q1	Q3	Média
Aeróbio mesofilos ^a	70	0	4,48	2,70	0	4,40	2,52
<i>Costridium</i> spp. ^a	77	0	3,40	1,30	1,00	2,60	1,46
Leveduras ^a	34	0	2,15	0	0	1,00	0,46
Coliformes Totais ^b	60	0	21,00	0,91	0	2,00	1,66
Coliformes termotolerantes ^b	62	0	6,40	0,30	0	0,72	0,56
Mofos totais ^a	83	0	9,00	2,85	1,00	4,62	2,95

^a Unidade formadora de colônias por grama de mel (log UFC.g⁻¹). ^b Número mais provável por grama de mel (NMP.g⁻¹). % = porcentagem de ocorrência nas amostras. Quartis1: 25% das amostras estão entre mediana e quartis1. Quartis3: 75% das amostras estão entre a mediana e quartis3.

A presença de microrganismos do mel pode indicar e influenciar a qualidade e a segurança do mesmo. Os microrganismos que sobrevivem (bactérias, mofos e leveduras) no

mel, são aquelas que resistem à alta concentração de açúcar, baixo teor de pH, entre outros fatores antimicrobianos.

De acordo com a legislação brasileira sobre requisitos microbiológicos em alimentos inclui a Portaria no 101 de 1993, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1993), e a Resolução RDC-12, 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001).

O mel segue o grupo de alimentos (açúcares, adoçantes e similares), em que um lote de mel determinando por: n , c , m e M adotam-se as definições; ' n ' número de unidades tomadas aleatoriamente de um lote para serem analisadas individualmente.; ' c ' é o número máximo aceitável de unidades em que as contagens microbianas no lote se situam acima do valor mínimo ' m ' e abaixo do limite máximo tolerado ' M '; ' M ' é o limite tolerável, acima do padrão, que pode ser alcançado por ' c ' unidades de amostra, não ultrapassando o valor máximo.

Os valores aceitos são: $n = 5$, e valores de c , m e M , variam de acordo com o microrganismo: coliformes a 45 °C (NMP.g⁻¹) considera $n=5$; $c=2$; $m=10$ e $M= 10^2$ e mofos e leveduras (UFC.g⁻¹) considera $n = 5$, $c = 2$, $m = 10$ e $M = 100$. Assim o regulamento técnico aceita no máximo 10² UFC.g⁻¹ ou 100 NMP.g⁻¹ para microrganismos, exceto salmonela que não é permitido.

A Resolução RDC-12 de 2001 é mais flexível do que os níveis estabelecidos pela Resolução revogada do MERCOSUL GMC, n.º 15/94 (MERCOSUL, 1994), em que regulamentava a fixação de identidade e qualidade de mel, no qual esse deveria atender às seguintes características microbiológicas: coliformes a 35°C (NMP.g⁻¹) considerava $n = 5$, $c = 0$ e $m = 0$ e para mofos e leveduras (UFC.g⁻¹) considerava $n = 5$, $c = 2$, $m = 10$ e $M = 100$).

As análises microbiológicas demonstraram que todas as amostras apresentaram valores dentro da faixa determinado pelo regulamento técnico (RDC-12 de 2001). Ocorreu uma reduzida incidência de aeróbios mesófilos, *Clostridium* spp., coliformes totais e coliformes termotolerantes, os quais apresentaram média de 2,52 logUFC.g⁻¹, 1,46 logUFC.g⁻¹, 1,66 NMP.g⁻¹ e 0,56 NMP.g⁻¹, respectivamente (Tabela 1). No entanto as porcentagens das comunidades bacterianas observadas nas amostras de mel foram de 70% para aeróbios mesófilos, 77% de *Clostridium* spp., 60% de coliformes totais e 62% de coliformes termotolerantes.

As outras comunidades microbianas, constituídas por mofos e leveduras ocorreram em uma proporção de 83% e 34% das amostras, com uma reduzida média de crescimento (2,95 log UFC.g⁻¹ e 0,46 log UFC.g⁻¹), respectivamente (Tabela 1). A avaliação microscópica da comunidade de microbiana de mofos identificou cinco gêneros diferentes, de modo que 77%

das amostras continham *Cladosporium* spp., 49% de *Phoma* spp. 31% de *Aspergillus* spp., 22% de *Fusarium* spp. e 13% de *Penicillium* spp. (Tabela 2).

Tabela 2. Gêneros de mofos identificado em amostras de mel do oeste do Estado do Paraná, Sul do Brasil

Parâmetros	%	Mínimo	Máximo	Mediana	Q1	Q3	Média
<i>Fusarium</i> spp. ^a	22	0	5,00	0	0	0	0,35
<i>Aspergillus</i> spp. ^a	31	0	3,30	0	0	1,00	0,52
<i>Cladosporium</i> spp. ^a	77	0	5,30	1,00	1,00	1,57	1,20
<i>Phoma</i> spp. ^a	49	0	3,30	0	0	1	0,71
<i>Penicillium</i> spp. ^a	13	0	3,24	0	0	0	0,16

^a Unidade formadora de colônias por grama de mel (log UFC.g⁻¹). % = porcentagem de ocorrência nas amostras. Quartis1: 25% das amostras estão entre mediana e quartis1. Quartis3: 75% das amostras estão entre a mediana e quartis3.

Os dados das comunidades microbianas de aeróbios mesófilos do presente estudo apresentam-se bem inferiores aos encontrados na literatura. Azonwade et al. (2018) avaliaram amostras de mel de Benin encontraram de 180 a 290 UFC.g⁻¹ e Estevinho et al. (2012) observaram em mel orgânico em Portugal em torno de $1,3 \times 10^2 \pm 75,5 \times 10^1$.

Estes baixos crescimento de aeróbios mesófilos, mofos e leveduras provavelmente estão ligados a contaminação primária pelo conteúdo intestinal das abelhas, o ambiente da colônia e as plantas forrageadas por elas (ANDERSON et al., 2013; WEN et al., 2017). Este mesmos autores afirmaram que ocorre um fluxo microbiano dentro da colônia, pois observaram os mesmos microrganismos nas flores, no pão de abelha, no ambiente da colmeia e no intestino das abelhas. Esses valores indicaram que está sendo seguido as boas práticas de qualidade e produção apícola pelos apicultores.

Em relação a qualidade sanitárias das amostras (coliformes totais e coliformes termotolerantes) e a segurança (*Clostridium* spp.), a incidência desses microrganismos indicou contaminação secundária (SNOWDON e CLIVER, 1996). Os valores de coliformes apontaram contaminação direta ou indireta de origem fecal, uma vez que o habitat natural dos coliformes é do trato entérico de humanos e animais e a ausência desses microrganismos indica a higiene adequada durante a coleta, extração e manuseio do mel (SANZ et al., 1995). A presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes apresentaram grande variação na literatura em que foi observado em amostras de mel na Argentina (PUCCIARELLI et al., 2014), na Itália (SINACORI et al., 2014), no México (VÁZQUEZ-QUIÑONES et al., 2017), e ausentes nas

amostras avaliadas por Sanz et al. (1995), Iurlina e Fritz (2005), Estevinho et al. (2012) e Fernandez et al. (2017).

Fernandez et al. (2017) avaliaram microrganismos em diferentes pontos do processamento do mel (favo de mel, alvéolos retirados, extrator de mel, decantador e tambor de armazenamento) em oito unidades de extração de mel. Estes mesmos autores observaram que quando as normas de boas práticas de fabricação não foram seguidas em determinada casa de mel, havendo um aumento na contaminação por coliformes em todos os pontos de avaliação desta mesma casa de mel.

Os dados apresentaram a incidência de *Clostridium* spp., o principal microrganismo de preocupação para a saúde humana. As fontes de contaminação podem ocorrer devido ao forrageamento pelas abelhas, pelo ar, poeira e na alimentação energética fornecida pelos apicultores no período do inverno, uma vez que, de acordo com Snowdon e Cliver (1996) e Jay et al. (2005), os *Bacillus* e *Costridium* podem ser importantes contaminantes bacterianos de açúcares de cana (*Saccharum officinalis*) e beterraba (*Beta vulgaris*).

Alta incidência de *Clostridium* spp., também foi observado por Pucciarelli et al. (2014), em 70% das amostras ao avaliarem o crescimento deste microrganismo no mel de Jatai (*Tetragonisca angustula*) não havendo o isolamento de *Clostridium botulinum* por meio de testes bioquímicos, sugerindo que nesse estudo a incidência de 77% deste gênero (Tabela 1), não indica a presença de *C. botulinum*.

O mel devido ao seu baixo pH (3,4 a 5,5) e a sua baixa atividade de água (0,5 a 0,6) atua como um fator antimicrobiano, inibindo a sobrevivência de bactérias. No entanto apesar do *C. botulinum* ser estritamente anaeróbico, esse sobrevive por longos período em essas condições aeróbias. O *C. botulinum* devido ao fato de apresentar-se na forma esporulada, sobrevivendo em condições inóspitas e ao aparecer condições ambientais favoráveis ocorre um rápido crescimento.

Por isso é grande a preocupação com patógenos *C. botulinum* no mel, já que é o alimento mais frequentemente associado ao botulismo infantil (AURELI et al., 2002). Devido a tais características, atualmente a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2002) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2011) não recomendam fornecer mel as lactantes e crianças com menos de 6 e 12 meses de idade, respectivamente por possuírem microflora intestinal limitada ou baixa imunidade.

O baixo valor de levedura demonstrou que houve um limitado crescimento desses microrganismos, indicando a boa qualidade higiênico-sanitária das amostras, pois as leveduras são transferidas para o mel por contaminação primária e secundária (SNOWDON e CLIVER,

1996). Além disso, esses resultados indicaram que o mel extraído possuía baixo teor de umidade (< 20%), pois sabe-se que, acima de 21% a umidade favorece a proliferação destes microrganismos, os quais sobrevivem em condições ácidas, ocasionando a fermentação, levando à formação de gás carbônico e álcool e, conseqüentemente, reduzindo a qualidade do mel (SNOWDON e CLIVER, 1996; WHITE JR, 2010).

Sereia et al. (2010) avaliaram a qualidade higiênico-sanitária de amostras de mel orgânico e não orgânico de ilhas do rio Paraná, observaram que o mel orgânico apresentou qualidade inferior ao mel convencional com relação a qualidade higiênico-sanitária, concluindo que a umidade das amostras foi o principal fator para a redução da qualidade do mel. Além disso, Sereia et al. (2011) avaliando o mel orgânico relataram que houve uma redução dos mofos e leveduras, considerando o mel processado de forma adequada em relação ao mel que não seguiu as normas de boas práticas de higiene de acordo com a Portaria nº 367, de 4 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997).

Os gêneros de mofos identificados neste estudo corroboram os dados da literatura, já que os gêneros *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus* e *Alternaria*, são considerados microrganismos comuns em amostras de mel (NASSER, 2004; KACANIOVÁ et al., 2009; WEN et al., 2017). Sinacori et al. (2014) e Knazovická et al. (2015), verificaram que a microbiota do mel multifloral apresentou maiores índices de biodiversidade e riqueza de espécies em relação aos monoflorais.

Kačániová et al. (2009) verificaram que existe um fluxo microbiano dentro da colônia, uma vez que as mesmas espécies de mofos foram encontradas por eles no mel, no ambiente da colônia e no intestino das abelhas. Os mesmos autores destacaram elevadas incidências (25.000 UFC.g⁻¹) dos gêneros *Cladosporium* e *Penicillium* no mel, além de constatarem os gêneros *Aspergillus* (12,66%), *Cladosporium* (13,27%) e *Penicillium* (72,24%) no ambiente da colônia, havendo um aumento de mofos e leveduras no trato entérico das abelhas entre a estação do verão e o inverno.

WEN et al. (2017) avaliaram a carga microbiana nos 15 primeiros dias de amadurecimento do mel e observaram que, enquanto ocorria processo de amadurecimento e redução do teor de umidade do mel, ao mesmo tempo ocorria redução da quantidade e a riqueza de espécies de microrganismos. Além disso, esses autores destacaram que após cinco dias de amadurecimento houve uma redução dos gêneros *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Phoma* e de leveduras após esse período que manteve-se em reduzida quantidade. Isso sugeriu que as amostras colhidas antes do tempo com elevado teor de umidade tornam-se mais favoráveis a multiplicação desses microrganismos levando a deterioração.

Através da análise de escala multidimensional não métrica (NMDS) visualizou-se que a estrutura geral das comunidades microbianas nas amostras de mel foram similares (Figura 2). O valor do estresse (0,154) indica que a distância entre os pontos no gráfico de ordenação possui representatividade do grau de similaridade entre as amostras e as comunidades bacterianas. As amostras do quadrante esquerdo superior possuem maiores valores para mofos, leveduras, *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., *Aspergillus* spp., *Phoma* spp. e coliformes fecais. O quadrante direito apresentou maiores valores para *Costridium* spp. e de aeróbios mesofilos (PCA) e parte inferior entre os dois quadrantes ocorre os maiores valores para coliformes totais.

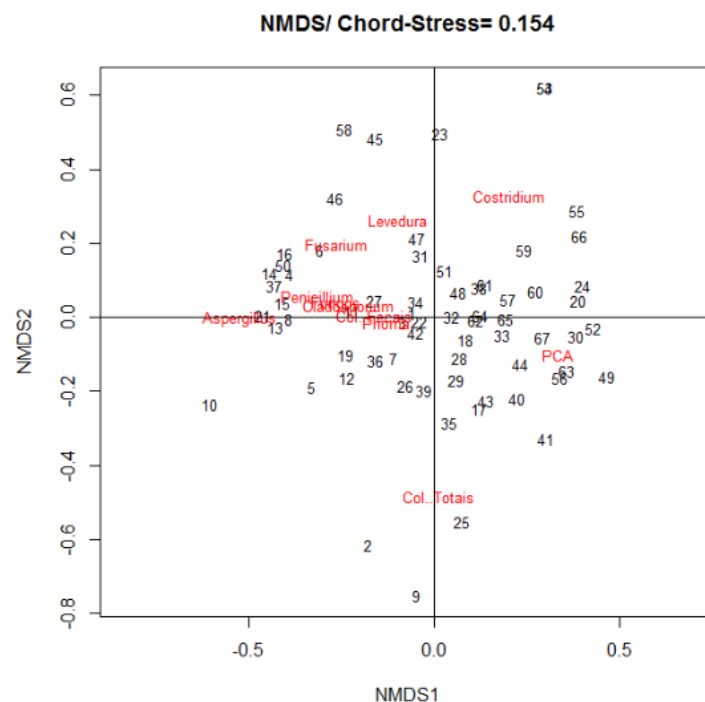


Figura 2. O escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) para a similaridade dos microrganismos de 67 amostras de mel, cada número é referente a uma amostra e as siglas são as diferentes comunidades microbianas, gerando uma corda de distância da matriz dos dados microbiológicos do mel produzido no oeste do Paraná com o valor do estresse de 0,154. PCA: aeróbios mesofilos; Col. Totais: Coliformes totais.

No entanto apenas a NMDS não foi suficiente para distinguir se houve a separação claras do agrupamento devido algumas comunidades microbianas apresentarem algum grau de sobreposição. Assim, a aplicação do método da largura da silhueta determinou ponto ótimo para a formação de dois grupos (Figura 3). Com um coeficiente de correlação cofenética (CCC) de 0,76 entre a matriz de similaridade original e a matriz resultante de similaridade. De acordo com Estevinho et al. (2016) esse valor CCC é razoável como fator de representatividade da Hierarquia.

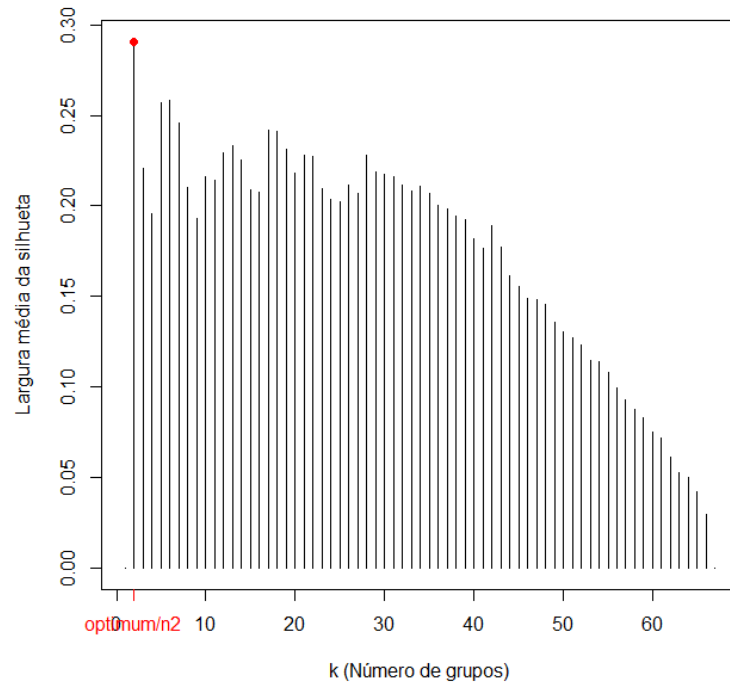


Figura 3. Gráfico de barra mostra a largura média da silhueta para $k = 2$ grupos para 67 amostras.

Após a ordenamento do gráfico NMDS e a aplicação do método largura de silhueta que determinou a formação de dois grupos, juntou com a análises de agrupamento (UPGMA), utilizando a distância Euclidiana, determinou mais precisamente a distinção dos grupos entre as amostras. A nova projeção NMDS (Figura 4) demonstrou que apesar da grande área de projeção possui similaridade entre os parâmetros microbiológicos, embora os perfis fossem separáveis visualmente houve a separação das amostras em dois grupos.

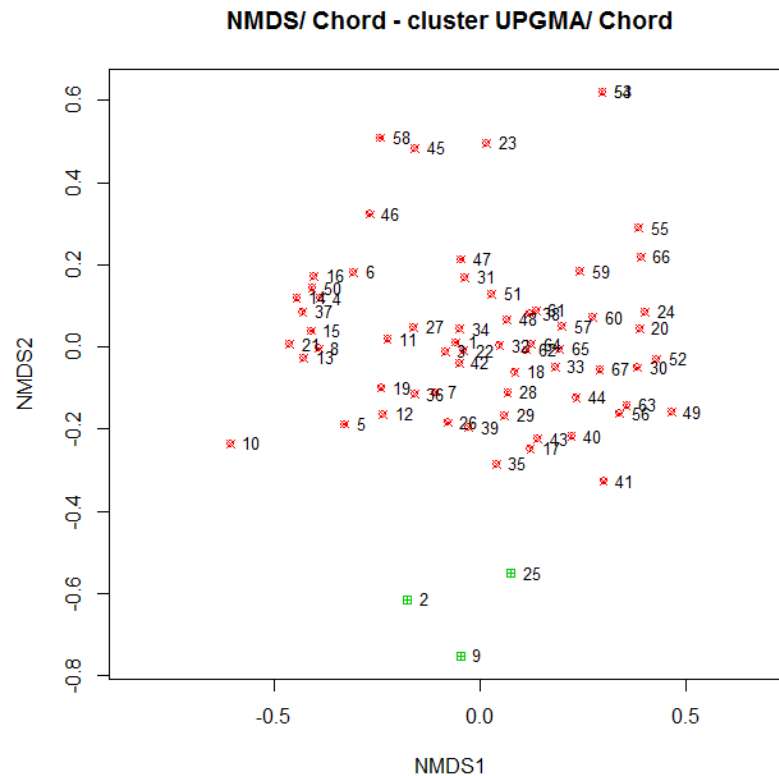


Figura 4. Agrupamento UPGMA de uma matriz de distância da corda entre dois grupos em um gráfico de ordenação NMDS para dados microbiológicos de 67 amostras de mel (CC = 0,76).

O maior grupo, em vermelho, apresentou um agrupamento de 64 amostras abrangendo todos os parâmetros microbiológicos, exceto coliformes totais, que foi agrupado no grupo em verde. Devido que essas três amostras apresentarem os maiores valores de coliformes totais em relação as demais amostras.

3.4 Conclusão

As avaliações microbianas apresentaram-se bem abaixo do padrão exigido pela Resolução RDC No 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. As maiores comunidades microbianas foram de aeróbios mesófilos e mofos, porém se deve uma atenção especial aos dados de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Clostridium* spp. que indicam falha no emprego das boas práticas qualidade e produção do mel. O emprego das análises multivariadas apresentou que ocorre uma similaridade entre as amostras de mel para a maioria das comunidades microbianas.

3.5 REFERÊNCIAS

- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da Diretoria Colegiada — RDC nº 44, de 19 de setembro de 2011.** Regulamento Técnico para fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância. Brasília: Ministério da Saúde. 2011.
- ANDERSON, K.E.; SHEEHAN, T.H.; MOTT, B.M. et al. Microbial ecology of the hive and pollination landscape: bacterial associates from floral nectar, the alimentary tract and stored food of honey bees (*Apis mellifera*). **PloS One**, v. 8, n. 12, p. e83125, 2013.
- AURELI, P.; FRANCIOSA, G.; FENICIA, L. Infant botulism and honey in Europe: a commentary. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 21, n. 9, p. 866-868, 2002.
- AZONWADE, F. E.; PARAÍSO, A.; DOSSA, A. et al. Physicochemical characteristics and microbiological quality of honey produced in Benin. **Journal of Food Quality**, v. 2018, n. ID 1896057, p. 1-13, 2018.
- BARTH, O.M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 3, p. 342-350, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 101, de 17 de agosto de 1993. **Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos**. 1991/1992 - 2a. revisão. Brasília: Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, 1993.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1.
- CODEX, ALIMENTARIUS. Revised codex standard for honey. **Codex Stander**, v. 11, p. 1982, 2001.
- CORBY-HARRIS, V.; MAES, P.; ANDERSON, K.E. The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers. **PloS One**, v. 9, n. 4, p. e95056, 2014.
- ESTEVINHO, L. M.; FEÁS, X.; SEIJAS, J.A. et al. Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 2, p. 258-264, 2012.
- ESTEVINHO, L.M.; CHAMBÓ, E.D.; PEREIRA, A.P.R. et al. Characterization of *Lavandula* spp. honey using multivariate techniques. **PloS One**, v. 11, n. 9, p. e0162206, 2016.
- FERNÁNDEZ, L.A.; GHILARDI, C.; HOFFMANN, B. et al. Microbiological quality of honey from the Pampas Region (Argentina) throughout the extraction process. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 49, n. 1, p. 55-61, 2017.

- FERREIRA, M.G.; ABSY, M.L. Pollen niche of *Melipona* (*Melikerria*) *interrupta* (Apidae: Meliponini) bred in a meliponary in a terra-firme forest in the central Amazon. **Palynology**, v. 42, n. 2, p. 199-209, 2018.
- IURLINA, M.O.; FRITZ, R. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, n. 3, p. 297-304, 2005.
- JAY, JAMES M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern food microbiology** 7th ed. New York: Springer, 2005.
- KAČÁNIOVÁ, M.; MELICH, M.; KŇAZOVICKÁ, V. et al. The indicator microorganisms value in relation to primary contamination of honey. **Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies**, v. 42, n. 2, p. 159-166, 2009.
- KNAZOVICKÁ, V.; MEDERIOVÁ, B.; HASCÍK, P. et al. Quality evaluation of unifloral and multifloral honeys from Slovakia and other countries. **The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 4, n. 4, p. 82-86, 2015.
- MERCOSUL. Resolução nº 15/94. **Regulamento técnico MERCOSUL de identidade e qualidade do mel**. Buenos Aires: Grupo de Mercado Comum, 1994. Disponível em: < http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PdF/GMC_reS_1994-015.pdf >. Acesso em: 23/01/2018.
- MOLAN, P.C. Honey as an antimicrobial agent. In: **Bee Products-Properties, Application and Apitherapy**. Boston: Springer, 1997. 27-37p.
- NASCIMENTO, K.S.; SATTLER, J.A.G.; MACEDO, L.F.L. et al. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **Food Science and Technology**, v. 91, n. 2018, p. 85-94, 2018.
- NASSER, L.A. Isolation and characterization of fungi contaminating packaged honey commonly consumed in Saudi Arabia. **Assiut University Bulletin For Environmental Researches**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2004.
- PUCCIARELLI, A.B.; SCHAPOVALOFF, M.E.; KUMMRITZ, S. et al. Microbiological and physicochemical analysis of yateí (*Tetragonisca angustula*) honey for assessing quality standards and commercialization. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 46, n. 4, p. 325-332, 2014.
- SANZ, S.; GRADILLAS, G.; JIMENO, F. et al. Fermentation problem in Spanish north-coast honey. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 5, p. 515-518, 1995.
- SEKINE, E.S.; TOLEDO, V.A.A.; CAXAMBU, M.G. et al. Melliferous flora and pollen characterization of honey samples of *Apis mellifera* L., 1758 in apiaries in the counties of Ubiratã and Nova Aurora, PR. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 1, p. 307-326, 2013.

- SEREIA, M.J.; MARÇO, P.H.; PERDONCINI, M.R.G. et al. Techniques for the Evaluation of Physicochemical Quality and Bioactive Compounds in Honey. In: Toledo, V.A.A. **Honey Analysis**. IntechOpen: London, 2017. p.193-214.
- SEREIA, M.J.; ALVES, E.M., TOLEDO, V.D.A.A.D., MARCHINI, L.C. et al. Microbial flora in organic honey samples of Africanized honeybees from Parana River islands. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 31, n. 2, p. 462-466, 2011.
- SEREIA, M.J.; TOLEDO, V.D.A.A.D.; MARCHINI, L.C. et al. Microorganisms in organic and non-organic honey samples of africanized honeybees. **Journal of Apicultural Science**, v. 54, n. 1, p. 49-54, 2010.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997.
- SINACORI, M.; FRANCESCA, N.; ALFONZO, A. et al. Cultivable microorganisms associated with honeys of different geographical and botanical origin. **Food Microbiology**, v. 38, p. 284-294, 2014.
- SNOWDON, J.A.; CLIVER, D.O. Microorganisms in honey. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, n. 1-3, p. 1-26, 1996.
- VÁZQUEZ-QUIÑONES, C.R.; MORENO-TERRAZAS, R.; NATIVIDAD-BONIFACIO, I. et al. Microbiological assessment of honey in México. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 50, n. 1, p. 75-80, 2018.
- WEN, Y.; WANG, L.; JIN, Y. et al. The microbial community dynamics during the vitex honey ripening process in the honeycomb. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. ID 1649, p. 1-12, 2017.
- WHITE JR, J.W.E. Honey. In: GRANHAM, J.M. **The hive and the honey bee**. Hamilton: Dadanta & Sons, 9th ed., 2010, p. 869-925.
- WHO (World Health Organization). **Bolulism, fact sheet**, modificado em outubro de 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs270/en/>>. Acessado em 16/12/2017.

4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS AFRICANIZADAS DO OESTE DO PARANÁ, SUL DO BRASIL

Resumo: O objetivo desse estudo foi avaliar os parâmetros físico-químicos, compostos bioativos e atividade antioxidante de 67 amostras de mel produzidas em 14 municípios da região Oeste do Paraná. Foram calculados os valores mínimos e máximos, medianas, médias e quartis. O emprego do escalonamento não métrico multidimensional (NMDS) foi utilizado para testar as similaridades dos parâmetros entre diferentes amostras de mel. As análises revelaram que o teor de umidade variou entre 15 a 21%, pH de 2,65 a 4,4, e HMF de 10,12 a 13,67 mg.kg⁻¹, acidez de 6 a 83,5 meq.kg⁻¹, teor de proteína de 0,13 a 0,60%, cinzas de 0,03 a 0,45%, açúcares totais de 63,56 a 76,96%, açúcares redutores de 56,4 a 76,96%, e a sacarose de 0,42 a 13,07%. A cor na escala Pfund, variou de 0,1 a 0,6 e a condutividade de 181,2 a 565,8 $\mu\text{S.cm}^{-1}$. Os compostos bioativos de 11,39 a 61,27 mgAGE.100 g⁻¹, para fenóis totais, de 7,97 a 44,99 mgQE.100 g⁻¹ para flavonoides. Os valores da atividade antioxidante foram de 0,03 a 11,12 $\mu\text{molTE.g}^{-1}$ para FRAP, de 0,43 a 1,545 $\mu\text{molTE.g}^{-1}$ para DPPH e ABTS foi de 0,04 a 0,16 $\mu\text{molTE.g}^{-1}$. As análises dos parâmetros físico-químicos, compostos bioativos e atividade antioxidante indicaram a formação de nove grupos, comportando-se de modo semelhantes em relação a alguns parâmetros. Assim, as amostras de mel apresentam similaridade entre si. Esses resultados são importantes para confirmar a qualidade do mel produzido no Oeste do Paraná.

Palavras-chave: ácidos fenólicos, controle de qualidade, denominação de origem, DPPH, flavonoides, NMDS

4 PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION, BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HONEY SAMPLES OF AFRICANIZED HONEYBEE OF WEST OF PARANÁ, SOUTH OF BRAZIL

Abstract: The objective of this study was to evaluate the physico-chemical parameters, bioactive compounds and antioxidant activity of 67 honey samples produced in 14 municipalities in the west region of Paraná. The minimum and maximum values, medians, means and quartiles were calculated. The use of multidimensional non-metric scaling (NMDS) was used to test the similarities of the parameters between different samples of honey. The analyzes revealed that the moisture content ranged from 15 to 21%, pH from 2.65 to 4.4, and HMF from 10.12 to 13.67 mg.kg⁻¹, acidity from 6 to 83.5 mEq. kg⁻¹, protein content of 0.13 to 0.6%, ash of 0.03% to 0.45%, total sugars of 63.56% to 76.96%, reducing sugars of 56.4 to 76.96%, and sucrose from 0.42 to 13.07%. The color on the Pfund scale ranged from 0.1 to 0.6 and the conductivity from 181.2 to 565.8 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Bioactive compounds from 11.39 to 61.27 mgAGE.100 g⁻¹, for total phenols, from 7.97 to 44.99 mgQE.100 g⁻¹ for flavonoids. The antioxidant activity values were 0.03 to 11.12 $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ for FRAP, from 0.43 to 1.545 $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ for DPPH and ABTS was 0.04 to 0.16 $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$. The analysis of physico-chemical parameters, bioactive compounds and antioxidant activity indicated the formation of nine groups, behaving similarly to some parameters. Therefore, honey samples show similarity to each other. These results are important to confirm the quality of the honey produced in the West of Paraná.

Key words: denomination of origin, DPPH, flavonoids, NMDS, phenolic acids, quality control

4.1 Introdução

O mel é um produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas a partir da coleta do néctar das plantas, secreções das partes vivas das plantas, ou ainda excreções de insetos sugadores de plantas. As abelhas transformam com a adição de substâncias específicas, desidratando-o e armazenando-o nos favos de mel para o seu amadurecimento (BRASIL, 2000).

O mel não pode ser utilizado como um alimento completo para os humanos, mas tem o potencial como suplemento alimentar (BOGDANOV et al., 2008). O mel apresenta uma longa relação na medicina utilizada pelos humanos, utilizando-o contra várias doenças desde antigo Egito, Grécia e Roma, assim como apresenta tradição nas medicinas ocidental, tradicional chinesa e no Ayurveda (KUROPATNICKI et al., 2018).

Na medicina tradicional apresenta efeitos nos tratamentos de queimaduras, diarreia, úlceras (SUBRAHMANYAM et al., 2007). Além disso, melhora o estado imunológico, aferindo efeitos de atividades anti-inflamatórias, antibacterianas, antifúngica, antiviral, possuindo efeitos comprovados contra o câncer de mama, colorretal, renal, próstata, cervical e oral (AHMED et al., 2018). Esses efeitos medicinais se dão pela ação antioxidante do mel que apresenta compostos intrínsecos, como enzimas glicose-oxidase, a catalase e peroxidase entre outros compostos como carotenoides, ácidos orgânicos, ácido ascórbico, aminoácidos e proteínas conferindo atividade antioxidante próprias (MACHADO DE-MELO et al., 2018).

Os ácidos fenólicos e flavonoides são citados como os principais compostos que dão essa capacidade antioxidante ao mel (BAGLIO, 2018), eles apresentam uma ação antioxidante formada pelo mecanismo de ação e reações baseadas na transferência de átomos de hidrogênio ou na transferência de elétrons simples (ETERAF-OSKOU EI e NAJAFI, 2013). A quantidade e tipo dos compostos fenólicos depende da origem floral visitada pela abelha, ocorrendo diferenças entre regiões, fatores sazonais e ambientais (KAŠKONIENĚ e VENSKUTONIS, 2010).

Para o controle de qualidade do mel a normativas internacional determinam alguns parâmetros físico-químicos, entre os principais estão a umidade, açúcares, HMF, atividade diastásica, acidez, condutividade elétrica e a cor (CODEX, 2001). Porém muitos países possuem suas próprias normativas (SILVA et al., 2016; PASCUAL-MATE et al., 2018).

O mel brasileiro vem recebendo reconhecimento pela sua qualidade, devido a isso o mel em sua grande maioria é classificando como multifloral, tendo vista a área continental do país e apresentando uma grande flora apícola. Somadas a características do país houve a introdução

da abelha africanizada (*Apis mellifera*) que confere uma maior resistência a doenças e pragas não fazendo necessário a utilização de agroquímicos na manutenção das colmeias.

Como não há estudos abrangentes sobre as propriedades físico-químicas do mel produzido na região Oeste do Paraná, nesse estudo foram determinados os parâmetros físico-químicos de 67 amostras de mel, coletadas em 14 municípios. Além disso foi quantificado o teor dos compostos fenólicos assim como a sua atividade antioxidante. Por último foi realizado uma análise de similaridade, havendo um agrupamento com base nos parâmetros avaliados.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Origem geográfica das amostras de mel

Foram analisadas 67 amostras de mel produzidas por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L., 1979), provenientes de apicultores associados a Cooperativa Agrofamiliar Solidária dos Apicultores da Costa Oeste do Paraná (COOFAMEL) de 14 municípios da região oeste do Paraná: Santa Helena (n=28), Missal (n=7), Terra Roxa (n=7), Marechal Candido Rondon (n=6), Diamante do Oeste (n=5), Corbélia (n=2), Entre Rios do Oeste (n=2), Matelândia (n=2), Toledo (n=2), Francisco Alves (n=1), Itaipulândia (n=1), Palotina (n=1), Ramilândia (n=2) e uma de São José das Palmeiras (Figura 1).

Todas as amostras foram coletadas pelos apicultores e posteriormente recebidas pela cooperativa. A amostragem foi separada pelo produtor em um período (outubro de 2016 a março de 2017) e colocadas em embalagens plásticas transparentes com tampa de rosca e com capacidade de 500 gramas cada uma. As amostras in natura e originais foram mantidas em temperatura ambiente na cooperativa e depois foram transferidas quinzenalmente para a Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE e armazenadas entre 6 a 8°C em ambiente escuro no laboratório de Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias no campus de Marechal Cândido Rondon – PR, até o momento das análises.

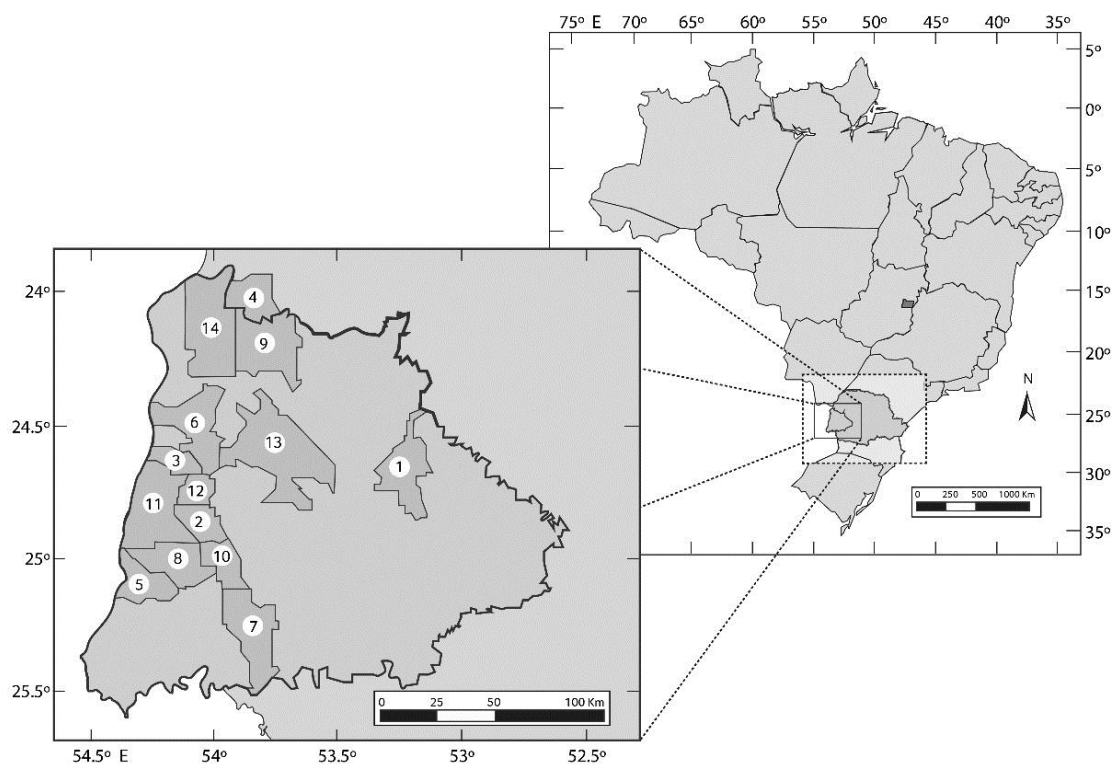


Figura 1. Mapa de localização da área de estudo. Posição do Paraná no Brasil (à direita), mapa (à esquerda) mostra em destaque os municípios de amostragem na região oeste do Paraná. (1 - Corbélia, 2 - Diamante do Oeste, 3 - Entre Rios do Oeste, 4 - Francisco Alves, 5 - Itaipulândia, 6 - Marechal Cândido Rondon, 7 - Matelândia, 8 - Missal, 9 - Palotina, 10 - Ramilândia, 11 - Santa Helena, 12 - São José das Palmeiras, 13 - Toledo, 14 - Terra Roxa).

4.2.2 Análises físico-químicas

Análises físico-químicas, compostos fenólicos e atividade antioxidante das amostras de mel foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Alimentos no ano de 2017. No momento da coleta foram congeladas ± 50 gramas a -20°C de cada amostra de mel para não sofrerem alterações dos compostos bioativos até o momento das análises. Todas as análises foram realizadas em triplicatas, aferindo maiores confiabilidades dos dados obtidos.

4.2.2.1 Umidade (%)

A umidade foi determinada seguindo o método refratométrico de Chataway que utiliza a medida de índice de refração da amostra para ser convertida em porcentagem de umidade (BOGDANOV et al., 2009).

4.2.2.2 pH

O pH foi estimado com base na determinação da concentração de íons de hidrogênio contido na solução de mel, seguindo o método descrito por Bogdanov et al. (2009).

4.2.2.3 Acidez livre (meq.kg⁻¹)

Foi determinada baseando-se na neutralização da solução ácida do mel titulada com hidróxido de sódio 0,05 N até o ponto de equivalência, seguindo o método descrito Zenebon et al. (2008).

4.2.2.4 Cinzas (%)

O método utilizado foi o gravimétrico para determinação de cinzas com incineração em mufla a 550°C por 5 horas (BOGDANOV et al., 2009).

4.2.2.5 Cor

O método para avaliação da cor do mel foi baseando nos diferentes graus de absorção da luz de vários comprimentos de onda, seguindo o método proposto por Vidal e Fregosi (1984), aplicando a tabela de cor estabelecida de escala Pfund.

4.2.2.6 Condutividade elétrica (μS.cm⁻¹)

A condutividade elétrica fundamenta-se no fato de que soluções de sais conduzem a corrente elétrica entre dois eletrodos e foi determinada de acordo com o método descrito por Marchini et al. (2004).

4.2.2.7 Determinação de Proteína (%)

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

4.2.2.8 Determinação de Hidroximetilfurfural (HMF)

A determinação do conteúdo HMF foi realizado conforme AOAC (1990), baseada na leitura da absorvância UV, utilizando espectrofotômetro modelo (UV-1800, SHIMADZU) nos comprimentos de onda de 284nm e 336nm em cubetas de quartzo.

4.2.2.9 Determinação do conteúdo de açúcares redutores, açúcares totais e sacarose aparente (%)

A determinação de açúcares totais (%), açúcares redutores (%) e sacarose aparente (%) baseou-se no procedimento descrito por Bogdanov et al. (2009), com algumas adaptações por Sereia et al. (2017). O método baseia-se na capacidade de açúcares, como glicose e frutose, reduzirem o cobre presente na solução cuproalcalina (licor de Fehling), passando da forma Cu^{2+} para Cu^+ (redução de íons cúpricos em cuprosos), sendo que os açúcares são oxidados a ácidos orgânicos (MARCHINI et al., 2004).

4.2.2.10 Determinação dos componentes fenólicos totais

Para a determinação dos fenóis, flavonoides, FRAP, DPPH e ABTS foi obtido um extrato de mel por meio da diluição do mel em metanol (1:11 V/V) submetido ao banho ultrassônico por 15 minutos e filtrado para retenção de partículas maiores.

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON, ORTHOFER, & LAMUELA-RAVENTOS, 1999) com modificações por Meda et al. (2005). O ácido gálico foi usado como padrão para construção da curva de calibração com a média de três leituras em concentrações variando de 5,0 a 80,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com um R^2 : 0,9999, e o conteúdo fenólico total foi expresso em mgGAE.100 g^{-1} de mel.

4.2.2.11 Determinação do conteúdo totais de flavonoides totais

O conteúdo total de flavonoides foi determinado pela utilização do método descrito por Meda et al. (2005), com algumas modificações. Os flavonoides totais foram determinados usando o padrão quercetina em concentrações, variando de 10-70 mg/L para calibração da reta de calibração (R^2 : 0,9972) por meio da média de três leituras, o teor de flavonoides foi expresso em mgEQ.100 g⁻¹ de mel.

4.2.3 Determinação da atividade antioxidante

4.2.3.1 Método de redução de oxidação férrica (FRAP)

O ensaio da atividade antioxidante FRAP foi determinado de acordo com Benziel e Strain (1996), com algumas modificações. Avaliando a capacidade dos extratos de mel de reduzir o reagente TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil) -1,3,5-triazina). Os resultados FRAP foram obtidos por meio do ajuste da curva de calibração do sulfato ferroso nas concentrações variando de 500 a 1500 μ M, com um R^2 : 0,9988. Os resultados da atividade antioxidante FRAP foram expressos em μ mol de sulfato ferroso equivalente (μ molSFE. g⁻¹)

4.2.3.2 Atividade sequestrante do radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

A capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) dos extratos é devido a sua capacidade de sequestrar o radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) e foi determinada conforme Beretta et al. (2005) com modificações. Os resultados DPPH foram obtidos de acordo com a equação ajustada da curva padrão preparada com o antioxidante sintético Trolox [6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico] em concentrações que variaram de 20 a 140 μ mol de Trolox (R^2 : 0,9977). Os resultados foram expressos em μ mol Equivalente Trolox grama de amostra (μ molET. g⁻¹).

4.2.3.3 Ensaio de descoloração do radical catiônicos 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) ABTS

A Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) é estimada por meio da capacidade da amostra em sequestrar o radical ABTS [2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]. Foi realizada segundo Re et al. (1999), com modificações. Para a construção da curva padrão utilizou-se o antioxidante sintético Trolox [6-hidroxi-2,5,7,8-

tetrametilchroman-2-ácido carboxílico] nas concentrações de 100 a 1500 μmol (R^2 : 0,9988). Os resultados foram expressos em μmol Equivalente Trolox grama de amostra ($\mu\text{molET. g}^{-1}$).

4.2.4 Análise estatística

Calculou-se os valores mínimos e máximos, medianas, médias e quartis para os parâmetros físico-químicos, compostos bioativos e atividade antioxidante. Os dados das variáveis foram analisados por análise fatorial multivariada. O emprego do escalonamento não métrico multidimensional (NMDS) foi utilizado para testar as diferenças dos parâmetros entre as diferentes amostras de mel. Posteriormente foi empregado a distância euclidiana com os dados normalizados, utilizando o comando "metaMDS" para gerar processos aleatórios e interativos, visando encontrar a melhor solução possível. O valor do ajuste medido do NMDS foi avaliado pelo valor do "stress". Para a estimativa do ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma gerado, calculou-se ainda o coeficiente de correlação cofenética (ESTEVINHO et al., 2016). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software R estatístico, versão 3.0.2.

4.3 Resultados e Discussões

4.3.1 Parâmetros físico-químicos

Nesse estudo 67 amostras de mel produzidas por *A. mellifera*, de 14 municípios da região oeste do Paraná foram caracterizadas e comparadas e os resultados das avaliações físico-químicas são apresentados na Tabela 1.

Todas as amostras de mel avaliadas foram caracterizadas como ácidas, devido ao baixo pH que variou de 2,65 a 4,44 (Tabela 1). Embora o pH não seja regulamentado pelos comites normativos nacional (BRASIL, 2000) e internacional (CODEX, 2001). Marchini et al. (2004) e Marchini et al. (2005) citaram valores de pH variando de 2,30 a 4,60. Os valores de pH encontrados nesse trabalho corroboram com as pesquisas realizadas nos anos anteriores em amostras de mel dessa mesma região, nos quais os teores médios observados foram de: 3,96 (MORAES et al., 2014), 3,75 a 4,39 (CAMARGO et al., 2014); 3,98 (ALNOLD, 2016) e 3,74 (RADTKE, 2016).

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos em amostras de mel do oeste do Estado do Paraná, Sul do Brasil

Parâmetros	Legislação*	Mínimo	Máximo	Mediana	Q1	Q3	Média
pH	3,30 a 4,60	2,65	4,44	3,10	2,92	3,48	3,26
Cor (mm)	-----	0,10	0,60	0,22	0,19	0,26	0,26
HMF (mg.kg ⁻¹)	Máximo 60	10,12	13,67	10,65	10,48	10,91	10,79
Umidade (%)	Máximo 20	15,40	21,55	18,70	18,23	19,30	18,75
Acidez (mEq.kg ⁻¹)	Máximo 60	6,00	83,50	34,00	23,25	41,50	34,54
Condut. (µS.cm ⁻¹)	-----	181,20	565,80	349,10	286,80	385,60	340,10
Proteína (%)	-----	0,13	0,60	0,26	0,22	0,31	0,28
Cinzas (%)	Máximo 0,60	0,03	0,45	0,14	0,11	0,16	0,14
AT (%)	-----	63,56	76,96	68,97	66,74	70,92	69,09
AR (%)	Mínimo 65	56,40	72,78	64,39	62,76	66,67	64,57
Sacarose (%)	Máximo 6	0,42	13,07	3,92	2,19	5,42	4,28

*BRASIL (2000). Quartis1: 25% das amostras estão abaixo da mediana. Quartis3: 75% das amostras estão acima da mediana. HMF: Hidroximetilfurfural; Condu.: Condutividade. AT: Açúcares totais. AR: Açúcares redutores.

Estudos realizados por Kuchla et al. (2015), em amostras de mel de diferentes regiões do Paraná, mostraram que a amplitude obtida nas análises foi maior de 3,30 a 5,50m, atingindo valores mais elevados. Trabalhos realizados no Brasil tem mostrado valores de pH entre 3,65 e 4,25 no Nordeste (ALMEIDA et al., 2016), 3,30 a 3,97 no Norte (LEMOS et al., 2017) e 3,63 a 4,68 Sul (NASCIMENTO et al., 2018).

Os valores de pH de acordo com Lacerda et al. (2010) possuem correlação direta com os baixos teores de minerais e também é influenciado pela origem floral e geográfica. No estudo realizado, avaliando amostras de mel de diferentes regiões do Paraná, observou que os menores valores de pH foram obtidos em amostras da região Oeste (GREGÓRIO, 2017). Essa característica são favoráveis, pois os valores de pH baixos inibem o crescimento e a proliferação de microrganismos devido a maioria deles apresentarem um pH ótimo para o seu desenvolvimento de 6,9 a 7,50. Assim como o pH, a acidez livre do mel também é importante na determinação do sabor e na estabilidade contra o desenvolvimento de microbiano.

O valor médio de acidez livre foi de 34,54 mEq.kg⁻¹ (Tabela 1), sendo similares aos observados por Gregório (2017)., avaliando amostras de mel das diferentes regiões do Paraná relatou resultados similares de acidez aos desse estudo. Houve apenas três amostras tiveram valores acima do limite máximo estabelecido pelas legislações nacional (BRASIL, 2000) e internacional (CODEX, 2001). Esses valores foram semelhantes aos de estudos realizados na

região (MORAES et al., 2014; CAMARGO et al., 2014; KUCHLA et al., 2015; ARNHOLD, 2016 e RADTKE, 2016).

O teor de umidade (%) das amostras de mel analisadas apresentou valor médio de 18,75%, (Tabela 1) condizendo com as informações de estudos em safras passadas nessa mesma região de 2008/2009 (MORAES et al., 2014), 2009/2010 (CAMARGO et al., 2014), 2014/2015 (ARNHOLD, 2016) e 2015/2016 (RADTKE, 2016). Apenas 7% das amostras estavam acima dos limites permitido pela legislação Brasil (2000) e do Codex (2001), excedendo o limite máximo de 20%. Vários fatores influenciam o teor de umidade entre eles, o grau de maturidade do mel, fatores ambientais na colheita (AZONWADE et al., 2018), técnicas de processamento (KADRI et al., 2017), e as condições de armazenamento (MARTÍNEZ et al., 2017).

A cor e o sabor são os primeiros fatores que influenciam na aceitação por parte dos consumidores (SILVA et al., 2016; KORTESNIEMI et al., 2018). Os valores obtidos nas análises para determinação de cor variaram na faixa de 0,1 a 0,6 mm (Tabela 1) e distribuem-se em termos percentuais de acordo com a classificação da escala Pfund, em branco (1,49%), extra âmbar claro (20,9%), âmbar claro (67,16%) e âmbar (10,45%).

Essas informações corroboram com pesquisas de amostras de mel de safras anteriores, como as de Moraes et al. (2014), Camargo et al. (2014), Arnhold (2016) e Radtke (2016), que apresentaram valores que variam de 0,12 a 0,945 mm. Devido à predominância de cores claras, o mel da região possui pontos positivos pois, de acordo com Gámbaro et al. (2007), as cores claras têm maior aceitabilidade pelos consumidores, o que motiva os entrepostos de outras regiões do Paraná e do Brasil adquirirem esse produto para mesclar com outros mais escuros, favorecendo a comercialização do produto.

Como apontado por Moraes (2012) e Arnhold (2016) as cores claras que o mel apresentou, principalmente nas amostras de origem beira lago (Bacia do Paraná 3), podem ter essa tonalidade pela a sua origem botânica. Essas autoras, por meio de análise polínicas, verificaram que as amostras de municípios beira lago apresenta dominância dos tipos polínicos *Hovenia dulcis*, *Eucalyptus* sp. *Parapiptadenia rígida* e *Leucaena leucocephala*, entre outras. Conferindo cores mais claras ao mel em relação às amostras provenientes de municípios afastados da Bacia do Paraná 3, que possuíam dominância dos tipos polínicos *Glycine max*, *Mimosa scabrella*. e *Eucalyptus* sp., entre outras.

Essas análises confirmaram o diagnóstico de plantas apícolas realizado por Camargo et al. (2014) que indicaram uma grande predominância dessas mesmas plantas, além de outras, em municípios beira lago e em regiões mais distantes do mesmo.

Sekine (2011) observou predominância da cor âmbar extra claro (50%), sendo ainda encontradas as cores âmbar claro (27%) e branco (23%) em municípios de Ubiratã e Nova Aurora. Nascimento et al. (2018), avaliaram amostras monoflorais do Estado Rio Grande do Sul, Brasil, observou que o mel de *H. dulcis* e o de *Eucalyptus* sp. foram classificados como branco, extra âmbar claro e âmbar claro, e as amostras multiflorais apresentaram cores mais escuras.

Os valores de HMF, indicam a boa qualidade do mel produzido na região, uma vez que todas as amostras estiveram inferiores a $13,67 \text{ mg.kg}^{-1}$ com uma média de $10,79 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Tabela 1), podendo ser considerado um mel fresco, uma vez que valores superiores podem ser indicativos de amostras de mel armazenadas por muito tempo ou que sofreram processo de aquecimento e fermentação (MACHADO DE-MELO et al., 2018). Nascimento et al. (2018), ao avaliar amostras do Rio Grande do Sul obteve valores inferiores ou similares a este estudo. Arnhold (2016) avaliando mel do oeste do Paraná teve uma média de $8,88 \pm 10,09 \text{ mg.kg}^{-1}$

Todas as amostras possuem o teor de HMF abaixo de $60,00 \text{ mg.kg}^{-1}$ e $40,00 \text{ mg.kg}^{-1}$, determinados pelas legislações nacional (BRASIL, 2000) e internacional (CODEX, 2001) respectivamente, sendo que esta última ainda permite o teor de HMF de até $80,00 \text{ mg.kg}^{-1}$ para lotes de mel com declaração de origem de clima tropical.

Os valores de cinzas obtidos nas análises apresentaram-se na faixa de 0,14% (Tabela 1). Esse parâmetro aponta variações de acordo com a origem floral (NASCIMENTO et al., 2018), assim como a origem geográfica (KARABAGIAS et al., 2014; KARABAGIAS et al., 2017), técnicas de manejo do mel (TAHA et al., 2010) e o tipo de extração aplicado (KADRI et al., 2017).

Estudos anteriores realizados na região apresentaram variações do teor de cinzas de 0,12% a 0,19% (MORAES et al., 2014; CAMARGO et al., 2014; ARNOLD, 2016). Todas as amostras enquadraram-se dentro da normativa vigente (BRASIL, 2000) que considera o máximo de 0,6% para mel floral, para o melato ou mel de melato e suas misturas com mel, se tolera até 1,2 %. Silva et al. (2016), afirmam que a condutividade elétrica é diretamente relacionada ao conteúdo de cinzas e informaram que este parâmetro foi incluído no Codex Padrões Alimentarius, substituindo a determinação de cinza em mel.

A legislação brasileira (BRASIL, 2000) não apresenta valores máximos e mínimos para condutividade elétrica, mas a legislação internacional (CODEX, 2001) considera valor máximo de $800,00 \mu\text{S.cm}^{-1}$. Assim, analisando os valores obtidos supõem que todas as amostras foram de origem floral, esses estavam bem abaixo do limite, variando de 181,20 a $565,8 \mu\text{S.cm}^{-1}$ (Tabela 1). Valores similares foram observados por Kuchla et al. (2015) e Gregório (2017), que

discutiram em suas pesquisas que as amostras do oeste do Paraná apresentaram os menores teores do estado.

A condutividade elétrica do mel é um parâmetro que junto com avaliações de sólidos insolúveis e minerais são utilizados para determinar sua pureza (SILVA et al., 2016). A condutividade elétrica é devida aos íons, ácidos orgânicos, proteínas e teor de cinzas, de forma que, quanto maior for o valor desses compostos no mel, maior será a sua condutividade elétrica (BOGDANOV et al., 1999; KARABAGIAS et al., 2014 e SOLAYMAN et al., 2016).

O valor médio de 0,28% de proteína no mel (Tabela 1), apesar de não haver um parâmetro estabelecido pelas normativas, são valores similares aos reportados em diversas literaturas. Gregório (2017) relatou valores variando de $0,19\% \pm 0,06$ a $0,40\% \pm 0,12$, também semelhante aos encontrados por Sekine (2011), de 0,20% a 0,46% para amostras de mel dos municípios de Nova Aurora e Ubiratã-PR, e aos 0,12% a 0,37% apresentados por Sodré et al. (2011) avaliando amostras de mel em Picos, no estado do Piauí. O teor de proteínas do mel apresenta variações devido diferentes fatores como a espécie da abelha e origem botânica do néctar (SANTOS-BUELGA E GONZÁLEZ-PARAMÁS, 2017), as secreções das glândulas salivares e hipofaríngeas das abelhas que são incorporadas por elas no processo de desidratação do néctar ao mel (BAGLIO, 2018).

Os teores totais de açúcares apresentaram uma média de 69,09% (Tabela 1). As normativas nacional (BRASIL, 2000) e internacional (CODEX, 2001) não apresentam valores mínimos e máximos para o teor de açúcares totais. Os valores obtidos, foram inferiores ao $73,29\% \pm 0,95$ a $79,05\% \pm 0,17$ relatado por Gregório (2017) e 67,80% a 88,30% apresentado por Marchini et al. (2005).

Em relação aos açúcares redutores que variaram de 56,4 a 72,78% (Tabela 1), ocorrendo 70% das amostras abaixo do mínimo permitido pela legislação nacional (BRASIL, 2000). Porém, pela normativa internacional (CODEX, 2001), apenas 9% das amostras estavam abaixo do limite mínimo. Os valores deste trabalho são inferiores aos relatados por Gregório (2017) que reportou uma variação de 73,29% a 79,05%, embora não houve valores de sacarose acima do limite máximo pela legislação, destacou que o teor de sacarose da região oeste foi superior ($p > 0,05$) das demais regiões do Paraná.

Observou-se que 33% das amostras apresentaram um teor de sacarose acima do permitido pela legislação internacional, que é de no máximo 5% (CODEX, 2001), enquanto que pela normativa brasileira (BRASIL, 2000), apenas 18% das amostras estavam acima do limite de 6%. No entanto os valores médios (4,28%), encontraram-se dentro dos limites das normativas

(Tabela 1). Essas informações serão repassadas à COOFAMEL para que sejam diagnosticadas as possíveis falhas de produção ou de beneficiamento.

Sodré et al. (2007) avaliando amostras de mel do estado do Ceará observaram que em 10% das amostras de mel estavam acima do permitido pela legislação, apresentando uma média de 2,71%, e Azeredo et al. (1999) discutiram que os valores de sacarose acima do permitido pela legislação podem indicar a colheita de um mel verde, em que a sacarose não tenha sido totalmente transformada em frutose e glicose pela ação da enzima invertase. Moreti et al. (2009) observaram que 5,8% das amostras analisadas estavam acima dos limites da normativa (BRASIL, 2000) e justificaram que as abelhas podem ter recolhido outro material além do néctar para produção do mel.

Na região oeste do Paraná os apicultores vêm aderindo à alimentação de inverno com a suplementação de açúcar cristal de cana, em alimentadores de superfície, pois consideram que as abelhas não incorporam esse açúcar sólido ao mel. Porém esses valores excedentes em algumas amostras podem indicar adulteração ou adição de sacarose ao mel, via contaminação pelas sobras da alimentação de inverno não retirado pelo apicultor ou adicionadas intencionalmente. Kast e Roetschi (2017) avaliaram a alimentação de açúcar sólido suplementado no alimentador e observaram que as abelhas transportam e armazenam o açúcar nos favos em forma de mel, demonstrando que não deve haver alimentação de açúcar sólido durante a safra apícola.

4.3.2 Compostos bioativos

O teor dos compostos fenólicos, flavonoides e a atividade antioxidante das amostras de mel estão na Tabela 2. O teor dos compostos fenólicos totais das amostras de mel variaram de 11,39 a 61,27 mgGAE.100 g⁻¹ de mel. O conteúdo fenólico de amostras de mel de quatro regiões Paraná de acordo com Gregório (2017) apresentou variação de 14,36 a 19,17 mgGAE.100 g⁻¹ de mel.

O conteúdo de fenóis totais observados no estudo, indicou que os valores estão dentro do observado na literatura. Literatura nacional apresentam valores similar ao observado por Nascimento et al. (2018), de 30,5 a 66,45 mgGAE.100 g⁻¹ de mel, e inferior ao relatado por Bueno-Costa et al. (2016), de 61,16 a 111,37 mgGAE.100 g⁻¹ de mel, ambos avaliando amostras de mel do estado do Rio Grande do Sul, no sul do Brasil.

Em outras regiões do Brasil, Duarte et al. (2012), relataram valor de $92,34 \pm 13,55$ mgGAE.100 g⁻¹ no estado de Alagoas. Sant'Ana et al. (2012) avaliando amostras de mel dos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro observaram valores de 0 a $175,39 \pm 0,68$ mgGAE.100 g⁻¹ e Silva et al. (2013) reportaram valores 17 a 66 mgGAE. 100 g⁻¹ produzido no estado do Amazonas.

Os valores observados nesse estudo se assemelham ao estudo internacional, em que Mahmoodi-Khaledi et al. (2017) avaliando amostras de mel do Irã (6,0 a 74,00 mgGAE.100 g⁻¹) encontrou valores inferiores aos relatado por Anand et al. (2018) avaliando mel de Manuka na Austrália (85,36 a 128 mgGAE.100 g⁻¹). Deng et al. (2018), relataram que os teores de fenóis totais de amostras de mel monofloral de trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moehch) foram superiores aos observados em amostras de mel Manuka ($149,8 \pm 3,7$ e $56,1 \pm 0,28$ mgGAE.100 g⁻¹, respectivamente. Ferreira et al. (2009), avaliando atividade oxidante observaram um aumento no teor fenóis totais de amostras mais escuras, sendo que as de cor branca, âmbar e âmbar escuro apresentaram valores crescentes de 13,2, 16,8 e 20,4 mgGAE.100 g⁻¹, respectivamente.

Tabela 2. Valores de fenóis totais, flavonoides e atividade antioxidante das amostras de mel *Apis mellifera* do Oeste do Paraná

Parâmetros	Mínimo	Máximo	Mediana	Q1	Q3	Média
Fenóis Totais	11,39	61,27	34,20	24,37	45,73	34,83
Flavonoides	7,97	44,99	16,04	13,12	18,15	16,26
FRAP	0,03	11,12	2,32	1,59	3,34	2,68
ABTS	0,43	1,54	1,05	0,80	1,21	1,01
DPPH	0,04	0,16	0,12	0,11	0,13	0,12

Os fenóis totais: mgGAE.100 g⁻¹ de mel, Flavonoides: mgEQ.100 g⁻¹ de mel; FRAP: $\mu\text{molSFE. g}^{-1}$, ABTS e DPPH: $\mu\text{molET. g}^{-1}$. Quartis 1: 25% das amostras estão abaixo da mediana. Quartis 3: 75% das amostras estão acima da mediana.

Os teores de flavonoides das amostras de mel analisadas (Tabela 2) variaram de 7,97 a 44,99 mgQE.100 g⁻¹. Observou-se também que todas as amostras de mel apresentaram o teor de fenóis totais maiores que os de flavonoides. De acordo Silva et al. (2016) os flavonoides representaram mais de 50% dos fenóis totais nas plantas e transferidos das plantas ao mel pelas abelhas.

O teor de flavonoides do mel paranaense foi relatado por Gregório (2017), apresentando um valor médio de 39,97 mgQE.100 g⁻¹ para a região oeste do estado e de 85,22 mgQE.100 g⁻¹ para região sul esse valor pode ter ocorrido na região sul devido a predominância da coloração

âmbar, já a região oeste apresentou a cor âmbar claro. Ocorre uma relação entre os teores de flavonoides e cor, pois observaram que ocorreu um aumento significativo $12,6 \pm 0,17$, $34,2 \pm 1,72$ e $58,7 \text{ mgQE.100 g}^{-1}$ de mel, para as cores branca, âmbar e âmbar escuro, assim como ocorreu com os teores de fenóis totais (Ferreira et al., 2009).

Os resultados deste estudo foram superiores aos de amostras de mel brasileiros, já que o conteúdo variou de 0 a $10,46 \text{ mgQE.100 g}^{-1}$ para amostras do Rio grande do Sul (BUENO-COSTA et al., 2016 e NASCIMENTO et al., 2018), de Minas Gerais e Rio de Janeiro. Sant'Ana et al. (2012) observaram valores de $11,44 \pm 2,43 \text{ mgQE.100 g}^{-1}$ e 0 a $10,91 \text{ mgQE.100 g}^{-1}$. Iurlina et al. (2009), avaliaram amostras de mel de diferentes regiões da Argentina que apresentaram teores que variaram de $0,38 \pm 0,04$ a $1,02 \text{ mgQE.100 g}^{-1}$ de mel. Alvarez-Suarez et al. (2018) avaliando amostras de mel de Cuba relataram valores de fenóis totais de $54,30 \pm 7,19 \text{ mgQE.100 g}^{-1}$ e os teores de flavonoides de $2,68 \text{ mgQE.100 g}^{-1}$. Esses valores demonstram que o mel produzido na região oeste do Paraná possui um teor de compostos bioativos, podendo ser utilizado como alimento adoçante e como fonte de antioxidantes alimentares, consideradas como propriedades nutracêuticas (Ahmed et al., 2018).

4.3.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante das amostras de mel avaliadas segundo o método FRAP foi de 0,03 a $11,11 \text{ } \mu\text{molSFE. g}^{-1}$, apresentando uma média de $2,68 \text{ } \mu\text{molSFE. g}^{-1}$. A capacidade de oxidação foi similar àquelas observadas por Sant'Ana et al. (2012), que relataram um valor de 0,66 a $3,88 \text{ } \mu\text{molSFE. g}^{-1}$ para mel da região de Rio de Janeiro e Minas Gerais e por Khalil et al. (2012) estudando mel da Argélia obtiveram médias de $3,37 \text{ } \mu\text{molSFE. g}^{-1}$. Também está próximo ao apresentado por Alvarez-Suarez et al. (2018), e Alvarez-Suarez et al. (2010), que avaliaram amostras de mel multiflorais Cubanas obtendo um valor médio de $0,27 \text{ } \mu\text{molSFE. g}^{-1}$ e de 0,68 a $2,94 \text{ } \mu\text{molSFE. g}^{-1}$, respectivamente.

Os valores de atividade antioxidante ABTS variaram de 0,43 a $1,54 \text{ } \mu\text{molTE. g}^{-1}$, com uma média de $1,01 \text{ } \mu\text{mol TE. g}^{-1}$ (Tabela 2). Esses valores atestaram os resultados encontrados por Rodriguez et al. (2012) avaliaram mel mexicano e observaram valores similares a atividade antioxidante FRAP, ABTS e DPPH. Salgueiro et al. (2014) avaliando amostras de mel produzidas no estado do Rio de Janeiro, constataram valores superiores a esse estudo e inferiores aos dados apresentados por Sant'Ana et al. (2012) avaliando amostras do mesmo estado.

Os resultados da atividade antioxidante ABTS realizados por Alvarez-Suarez et al. (2010) em mel cubano variaram de 1,03 a 2,94 $\mu\text{molTE. g}^{-1}$. Anand et al. (2018) verificaram valores levemente superiores a esse estudo analisando o reconhecido como o mel de Manuka da Austrália. Além disso o mel de Manuka também apresentou valores superiores para os teores de fenóis totais, flavonoides e atividade antioxidante FRAP e DPPH em relação as amostras de outras origens florais.

Os valores de atividade DPPH apresentaram valor médio de 0,12 $\mu\text{molTE. g}^{-1}$ (Tabela 2) bem inferiores a 0,31 $\mu\text{molTE. g}^{-1}$ relatado por Alvarez-Suarez et al. (2018) para amostras de mel multifloral cubanas. Kus et al. (2014) avaliaram amostras de mel da Polônia. Gregório (2017) avaliando amostras de mel de diferentes regiões do Paraná, utilizando outro método para a determinação da atividade antioxidante, encontrou maior atividade antioxidante DPPH das amostras de mel na região sul do Paraná, apresentando uma EC_{50} de 1,94 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ e o mel da região oeste apresentou os menores índices com 3,02 $\mu\text{g. mL}^{-1}$. No entanto a autora argumentou que por mais que as amostras da região Oeste apresentaram os menores teores de composto bioativos e atividade antioxidante, o mel da região apresentou resultados positivos para concentração inibitória mínima (CIM) e bactericida de concentração mínima (CBM) em teste bacteriostático para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, justificando que em outros compostos isso estariam diretamente relacionados com a capacidade antimicrobiana do mel da região.

Soares et al. (2017) observaram variação nos compostos bioativos e na atividade antioxidante nas regiões norte e central de Portugal com amostras de diferentes origens botânicas e relataram um aumento na atividade antioxidante com o aumento no tempo de armazenamento. Justificaram que esse aumento provavelmente se deva à degradação do mel pelas reações enzimáticas ou de Maillard, liberando grupos químicos intermediários com poder de redução. Ferreira et al. (2009) relataram melhor atividade antioxidantes nas amostras de mel com tonalidades mais escuras em relação as cores mais claras.

Como apresentado por Machado De-Melo et al. (2018), a atividade antioxidante do mel depende de sua fonte botânica, mudanças ambientais e sazonais, apresentando influências sobre essas propriedades. Durante o período de coleta (outubro a março) houve mudanças na intensidade de cores do mel, já que as amostras coletas em setembro, outubro e novembro caracterizaram-se por tonalidades mais claras, que de acordo com as literaturas ocorre uma redução dos compostos bioativos e atividade antioxidante (BERETTA et al., 2005; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2010). Em esses períodos ocorre floradas predominante de uva do Japão

(*Hovenia dulcis*), segundo Nascimento et al. (2018), o mel monofloral dessa espécie apresentou de 30,5 mgGAE.100g⁻¹ de fenóis totais e 0,2 mgQE.100 g⁻¹ para flavonoides.

Nos meses de dezembro à março ocorreu um escurecimento do mel que pode estar vinculado à floração do *Eucalyptus* bastante predominante na região (CAMARGO et al., 2014), e por sua importante presença nas amostras de mel da região (SEKINE et al., 2011; MORAES, 2012 e ARNHOLD, 2016), conseqüentemente ocorrendo uma elevação nos teores de compostos bioativos e atividade antioxidante do mesmo (NASCIMENTO et al., 2018).

Para avaliar se existe alguma relação entre os parâmetros avaliados e as amostras de mel dos 14 municípios, na Figura 2 empregou-se o escalonamento multidimensional não métrico (NMDS). Na ordenação NMDS produziu uma solução bidimensional com um valor estresse final de 0,033, de acordo com Estevinho et al. (2016) o ordenamento é representativo devido a baixo valor do estresse.

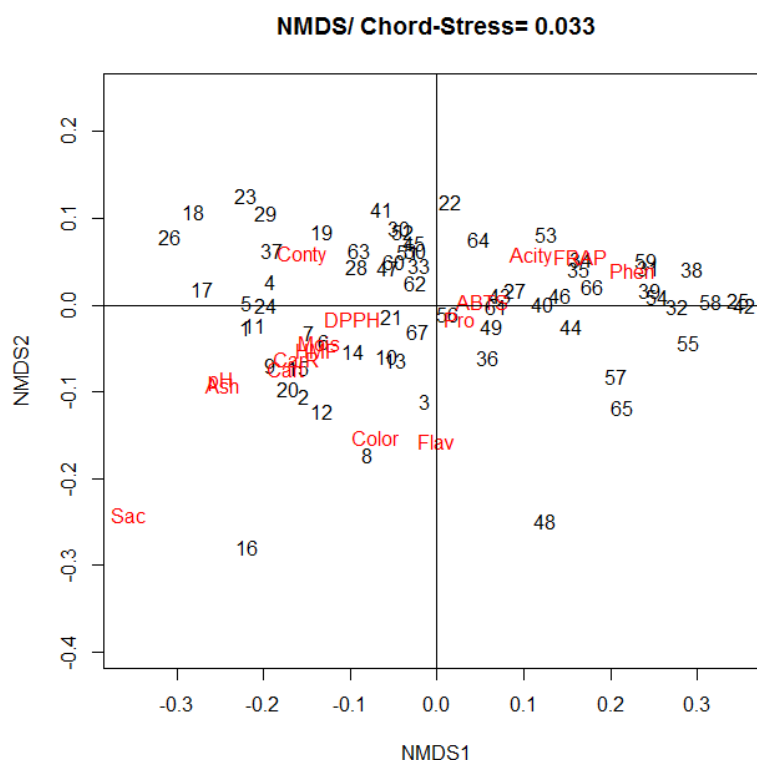


Figura 2. O escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) para similaridade dos dados físico-químicas, compostos bioativos e atividade antioxidante de 67 amostras de mel da região oeste do Paraná, cada número é referente a uma amostra e as siglas são os diferentes parâmetros avaliados, gerou uma corda de distância da matriz dos dados com o valor do estresse de 0,033. Phen: Fenóis Totais; Flav: Flavonoides; FRAP:FRAP; ABTS:ABTS; DPPH: DPPH; Sac: sacarose; Conty: condutividade; ASH: cinzas; pH: pH; color: cor; Acity: acidez livre; Pro: proteína; AR: açúcares redutores; AT: açúcares totais; HMF: Hidroximetilfurfural e Mo: umidade.

Ao todo foram definidos nove grupos, utilizando o critério da largura média da silhueta a partir do resultado da análise de agrupamento das amostras de mel (Figura 3 e 4). O coeficiente

de correlação (CCC) foi de 0,73, o que considerado razoável como um fator de representatividade (ESTEVINHO et al., 2016).

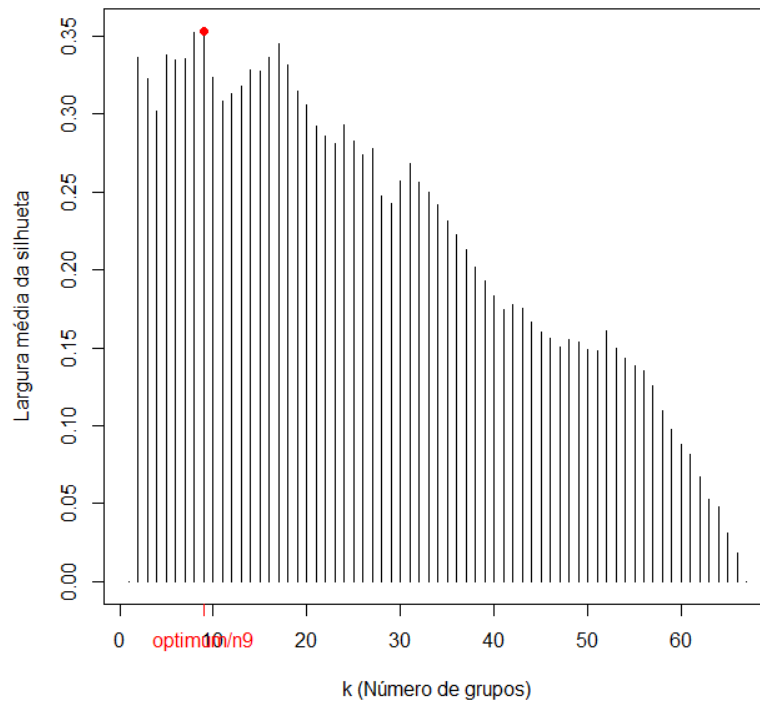


Figura 3. Parcelas de barra que mostra a largura média da silhueta para k = 9-67 grupos. A melhor partição por este critério é aquela com maior largura de silhueta média.

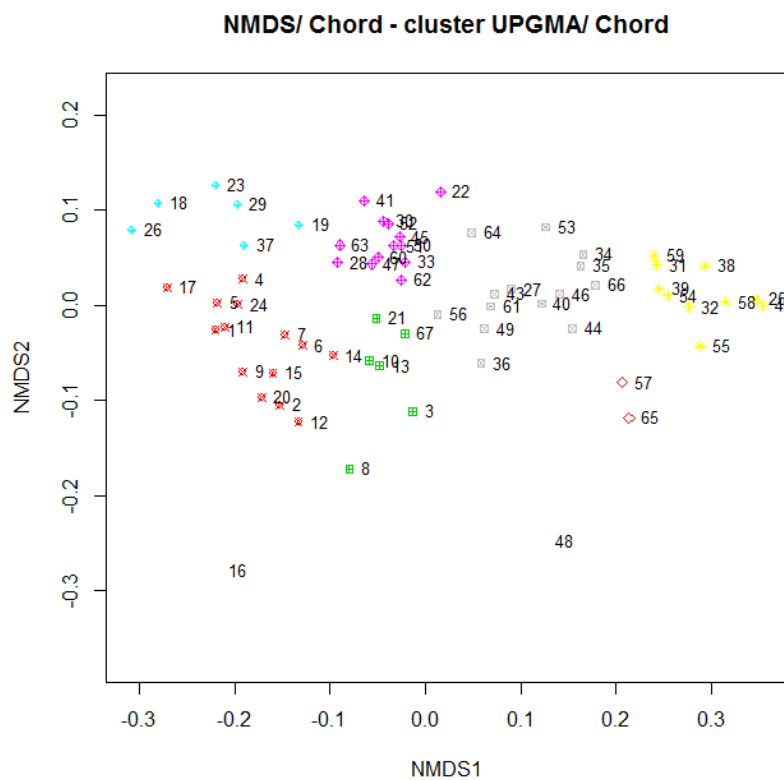


Figura 4. Agrupamento UPGMA de uma matriz de distância da corda entre os grupos em ordenação NMDS para dados físico-químicas, compostos bioativos e atividade antioxidante (CCC = 0,73).

O escalonamento multidimensional não métrico mostrou que as amostras estudadas foram agrupadas de acordo com a suas similaridades em relação aos parâmetros avaliados. O grupo em azul e roxo possui maiores valores para condutividade elétrica. Por outro lado, no grupo em amarelo as amostras foram as que apresentaram os maiores valores para fenóis totais. O grupo em verde apresentou os maiores valores para cor e flavonoides que segundo Moniruzzaman et al. (2013) e Khalil et al. (2012) apresentam uma correlação de 0,84 e de 0,96.

O grupo em vermelho apresentou os maiores valores para pH, HMF, umidade, cinzas, açúcares totais e açúcares redutores. O grupo em cinza apresentou os maiores valores para FRAP, ABTS, acidez e proteína. Khalil et al. (2012) relataram que a atividade antioxidante FRAP e Prolina apresentou uma alta correlação (0,987) e Alvarez-Suarez et al. (2010) observaram uma correlação de 0,96 entre FRAP e ABTS.

O grupo com duas amostras em vermelho podem apresentar uma relação com os compostos bioativos devido a sua localização, por último os dois grupos formados por uma amostra cada, não apresentaram relação de similaridade com outras amostras. Esses resultados são importantes pois mostrou que dentro da formação dos nove grupos houve uma distribuição homogênea dentro dos mesmos, demonstrando que de forma geral as amostras de mel desses municípios apresentam grande similaridade.

4.4 Conclusões

As amostras de mel avaliadas apresentam em conformidade em relação as características sensoriais, pureza e de deterioração perante aos comitês normativos nacional e internacional. Os parâmetros umidade, açúcares redutores e sacarose estavam fora dos limites permitidos pelas legislações em algumas amostras de mel. O presente trabalho corrobora com resultados de pesquisas anteriores, indicando que as amostras de mel produzidas na região Oeste do Paraná apresentam grande similaridade. Além disso, esse foi o primeiro trabalho que quantificou os compostos bioativos e a atividade antioxidante de amostras de mel da região, indicando concentrações relevantes de ácidos fenólicos e flavonoides, bem como o efeito de antioxidantes, demonstrando que o mel da região oeste do Paraná possui características bioativas importantes para a saúde humana.

4.5 Referências

- AHMED, S.; SULAIMAN, S.A.; BAIG, A.A. et al. Honey as a Potential Natural Antioxidant Medicine: An Insight into Its Molecular Mechanisms of Action. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, n. 8367846, p. 1-19, 2018.
- ALMEIDA, A.M.M. et al. 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.
- ALVAREZ-SUAREZ, J.M.; TULIPANI, S.; DÍAZ, D. et al. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8, p. 2490-2499, 2010.
- ALVAREZ-SUAREZ, J.M.; GIAMPIERI, F.; BRENCIANI, A. et al. *Apis mellifera* vs *Melipona beecheii* Cuban polyfloral honeys: a comparison based on their physicochemical parameters, chemical composition and biological properties. **Food Science and Technology**, v. 87, p. 272-279, 2018.
- ANAND, S.; PANG, E.; LIVANOS, G. et al. Characterization of physico-chemical properties and antioxidant capacities of bioactive honey produced from australian grown agastache rugosa and its correlation with colour and poly-phenol content. **Molecules**, v. 23, n. 1, p. 1-12, 2018.
- ARNHOLD, E. A. **Caracterização físico-química, sensorial e botânica de amostras de mel de *Apis mellifera* da região Oeste do Paraná, Ortigueira-PR e Palmeira das Missões-RS**; 2016. 84f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- AOAC - ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 15rd. Washington; 1990.
- AZEREDO, M.A.A.; AZEREDO, L.D.C.; DAMASCENO, J.G. Physicochemical characteristics of the honeys from São Fidélis county-RJ. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 19, n. 1, p. 3-7, 1999.
- AZONWADE, F.E.; PARAÏSO, A.; DOSSA, A. et al. Physicochemical characteristics and microbiological quality of honey produced in Benin. **Journal of Food Quality**, v. 2018, n. ID 1896057, p. 1-13, 2018.
- BAGLIO, E. Honey: Processing Techniques and Treatments. In: **Chemistry and Technology of Honey Production**. Cham: Springer, 2018. p. 15-22.
- BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.
- BERETTA, G.; GRANATA, P.; FERRERO, M. et al. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 533, n. 2, p. 185-191, 2005.

- BOGDANOV, S. Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. **Bee World**, v. 80, n. 2, p. 61-69, 1999.
- BOGDANOV, S.; JURENDIC, T.; SIEBER, R. et al. Honey for nutrition and health: A review. **Journal of the American College of Nutrition**, v 27, n. 6, p. 677-689, 2008.
- BOGDANOV, S. Harmonized methods of the International Honey Commission. International Honey Commission. **International Honey Commission**, p. 1-61, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial**, Brasília, 20 de outubro de 2000, Seção 1, p. 16-17.
- BUENO-COSTA, F.M.; ZAMBIAZI, R.C.; BOHMER, B.W. et al. Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Food Science and Technology**, v. 65, p. 333-340, 2016.
- CAMARGO, S.C.; GARCIA, R.C.; FEIDEN, A. et al. Implementation of a geographic information system (GIS) for the planning of beekeeping in the west region of Paraná. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 2, p. 955-971, 2014.
- CODEX, ALIMENTARIUS. Revised codex standard for honey. **Standards and Standard Methods**, v. 11. 2001.
- DENG, J.; LIU, R.; LU, Q. et al. Biochemical properties, antibacterial and cellular antioxidant activities of buckwheat honey in comparison to manuka honey. **Food Chemistry**, v. 252, p. 243-249, 2018.
- DUARTE, A.W.F.; DOS SANTOS VASCONCELOS, M.R.; DE MENEZES. A.P.D. et al. Composition and antioxidant activity of honey from Africanized and stingless bees in Alagoas (Brazil): a multivariate analysis. **Journal of Apicultural Research**, v. 51, n. 1, p. 23-35, 2012.
- ESTEVINHO, L.M.; CHAMBÓ, E.D.; PEREIRA, A.P.R. et al. Characterization of *Lavandula* spp. honey using multivariate techniques. **Plos One**, v. 11, n. 9, p. e0162206, 2016.
- ETERAF-OSKOU EI, T.; NAJAFI, M. Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: a review. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 16, n. 6, p. 731, 2013.
- FERREIRA, I.C.; AIRES, E.; BARREIRA, J.C. et al. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1438-1443, 2009.
- GAMBARO, A.; ARES, G.; GIMENEZ, A.N.A. et al. Preference mapping of color of Uruguayan honeys. **Journal of Sensory Studies**, v. 22, n. 5, p. 507-519, 2007.
- GREGÓRIO, A. **Atividade antimicrobiana e características físico químicas de amostras de mel de *Apis mellifera* de diferentes regiões do estado do Paraná**; 2017. 44f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Ambiental) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

- IURLINA, M.O.; SAIZ, A.I.; FRITZ, R. et al. Major flavonoids of Argentinean honeys. Optimisation of the extraction method and analysis of their content in relationship to the geographical source of honeys. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 1141-1149, 2009.
- KADRI, S. M.; ZALUSKI, R.; DE OLIVEIRA, O. Nutritional and mineral contents of honey extracted by centrifugation and pressed processes. **Food Chemistry**, v. 218, p. 237-241, 2017.
- KARABAGIAS, I.K.; BADEKA, A.; KONTAKOS, S. et al. 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.
- KARABAGIAS, L.K.; LOUPPIS, A.P.; KARABOURNIOTI, S. et al. Characterization and classification of commercial thyme honeys produced in specific Mediterranean countries according to geographical origin, using physicochemical parameter values and mineral content in combination with chemometrics. **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 5, p. 889-900, 2017.
- KAŠKONIENĖ, V.; VENSKUTONIS, P.R. Floral markers in honey of various botanical and geographic origins: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 6, p. 620-634, 2010.
- KAST, C.; ROETSCHI, A. Evaluation of baker's yeast in honey using a real-time PCR assay. **Food Microbiology**, v. 62, p. 282-288, 2017.
- KHALIL, M.I.; MONIRUZZAMAN, M.; BOUKRAÂ, L. et al. Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. **Molecules**, v. 17, n. 9, p. 11199-11215, 2012.
- KORORTESNIEMI, M.; ROSENVALD, S.; LAAKSONEN, O. et al. Sensory and chemical profiles of Finnish honeys of different botanical origins and consumer preferences. **Food Chemistry**, v. 246, p. 351-359, 2018.
- KUCHLA, M.; ARAÚJO, M.D.M.; SOARES, A.F. et al. Classification of wild honeys of different mesoregions from Paraná State, Brazil, by principal component analysis. **Revista Virtual Química**, v. 7, n. 6, p. 2301-2313, 2015.
- KUROPATNICKI, A.K.; KLÓSEK, M.; KUCHARZEWSKI, m. Honey as medicine: historical perspectives. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 1, p. 113-118, 2018.
- KUS, P.M.; CONGIU, F.; TEPER, D. et al. Antioxidant activity, color characteristics, total phenol content and general HPLC fingerprints of six Polish unifloral honey types. **Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 124-130, 2014.
- LACERDA, J.J.D.J.; SANTOS, J.S.D.; SANTOS, S.A.D. et al. Influence of physicochemical and elemental composition on honey colors produced by *Apis mellifera* in southwest Bahia using multivariate analysis. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p. 1022-1026, 2010.

- LEMOS, M.S.; VENTURIERI, G.C.; DANTAS-FILHO, H.A. et al. Evaluation of the physicochemical parameters and inorganic constituents of honeys from the Amazon region. **Journal of Apicultural Research**, p. 1-10, 2017.
- MACHADO DE-MELO, A.A.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.D.; SANCHO, M.T. et al. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. **Journal of Apicultural Research**, p. 1-33, 2018.
- MAHMOODI-KHALEDI, E.; LOZANO-SÁNCHEZ, J.; BAKHOUCHE, A. et al. Physicochemical properties and biological activities of honeys from different geographical and botanical origins in Iran. **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 6, p. 1019-1030, 2017.
- MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.D.C.C.; POZAR-OTSUK, I. Cluster analysis, with basis in physico-chemical composition, of samples of honey produced by *Apis mellifera* L. in São Paulo State. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 8-17 2005.
- MARCHINI, L.C.; SODRÉ, G. D.S.; MORETI, A.C.D.C.C. **Mel brasileiro: composição e normas**. Ribeirão: AS Pinto, 2004.
- MARTÍNEZ, R.A.; SCHVEZOV, N.; BRUMOVSKY, L.A. et al. Influence of temperature and packaging type on quality parameters and antimicrobial properties during Yateí honey storage. **Food Science and Technology**, n. AHEAD, p. 0-0, 2017.
- MEDA, A.; LAMIEN, C.E.; ROMITO, M. et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**. v. 91, n. 3, p. 571–577, 2005.
- MONIRUZZAMAN, M. et al. Two-year variations of phenolics, flavonoids and antioxidant contents in acacia honey. **Molecules**, v. 18, n. 12, p. 14694-14710, 2013.
- MORAES, F.J.; GARCIA, R. C.; VASCONCELOS, E. et al. Physicochemical parameters of honey from samples from africanized honeybees in Santa Helena and terra roxa counties (PR). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 4, p. 1269-1275, 2014.
- MORAES, F.J. **caracterização físico-química e palinológica de amostras mel de abelha africanizada dos municípios de Santa Helena e Terra Roxa (PR)**; 2012. 53f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- MORETI, A.C.D.C.C.; SODRÉ, G.D.S.; MARCHINI, L.C. et al. Physicochemical characteristics of *Apis mellifera* L. honey samples from the state of Ceará, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 1, p. 191-199, 2009.
- NASCIMENTO, K.S.; SATTler, J.A.G.; MACEDO, L.F.L. et al. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **Food Science and Technology**, v. 91, p. 85-94, 2018.
- PASCUAL-MATÉ, A. et al. Methods of analysis of honey. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 1, p. 38-74, 2018.

- RADTKE, T.H. **Análise físico-química de mel de *Apis mellifera* do Oeste do Paraná – safra 2015-2016**. 2016. 33f. Monografia (Graduação em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.
- RODRIGUEZ, B. A.; MENDOZA, S.; ITURRIGA, M.H. et al. Quality parameters and antioxidant and antibacterial properties of some Mexican honeys. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 1, 2012.
- SALGUEIRO, F.B.; LIRA, A.F.; RUMJANEK, V.M. et al. Phenolic composition and antioxidant properties of Brazilian honeys. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 821-826, 2014.
- SANTOS-BUELGA, C.; GONZÁLEZ-PARAMÁS, A.M. Chemical and biological properties. In: Alvarez-Suarez, J.M. **Bee Products-Chemical and Biological Properties**. Cham: Springer nature, 2017. p. 43-82.
- SANT'ANA, L.D.'O.; SOUSA, J.P.; SALGUEIRO, F.B. et al. Characterization of monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 1, 2012.
- SEKINE, E.S. **Flora apícola, caracterização físico-química e polínica de amostras de mel de *Apis mellifera* L., 1758 em apiários nos municípios de Ubiratã e Nova Aurora (PR)**. 2011. 57f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- SEREIA, M.J.; MARÇO, P.H.; PERDONCINI, M.R.G. et al. Techniques for the Evaluation of Physicochemical Quality and Bioactive Compounds in Honey. In: Toledo, V.A.A. **Honey Analysis**. London: IntechOpen, 2017. p.193-214.
- SILVA, I.A.A.; SILVA, T.M.S.; CAMARA, C.A. et al. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3552-3558, 2013.
- SILVA, P.M.; GAUCHE, C.; GONZAGA, L.V. et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309-323, 2016.
- SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.
- SOARES, S.; PINTO, D.; RODRIGUES, F.; et al. Portuguese Honeys from Different Geographical and Botanical Origins: A 4-Year Stability Study Regarding Quality Parameters and Antioxidant Activity. **Molecules**, v. 22, n. 8, p. 1338, 2017.
- SODRÉ, G.D.S.; MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.D.C.C. et al. Physico-chemical characteristics of honey produced by *Apis mellifera* in the Picos region, state of Piauí, Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 8, p. 1837-1843, 2011.

- SODRÉ, G.D.S.; MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.D.C.C. et al. Physical-chemical characterization of honey samples of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) from Ceará State. **Ciência Rural**, v. 37, n.4, p. 1139-1144, 2007.
- SOLAYMAN, M.; ISLAM, M.; PAUL, S. et al. Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 219-233, 2016.
- SUBRAMANIAN, R.; UMESH HEBBAR, H.; RASTOGI, N.K. Processing of honey: a review. **International Journal of Food Properties**, v. 10, n. 1, p. 127-143, 2007.
- VIDAL, R.; FREGOSI, E.V. **Mel: características, análises físico-químicas, adultrações e transformações**. Barretos: Instituto Tecnológico Científico “Roberto Rios”, 1984.
- TAHA, E.K.A.; MANOSUR, H.M.; SHAWER, M.B. The relationship between comb age and the amounts of mineral elements in honey and wax. **Journal of Apicultural Research**, v. 49, n. 2, p. 202-207, 2010.
- ZENEBON, O.; PASCUET, N.S.; TIGLEA, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4th ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O mel produzido no Oeste do Estado do Paraná, em processo de obtenção do selo de Denominação de Origem, possuindo no momento o selo de Indicação de Procedência. As amostras de mel foram avaliações conformes os parâmetros físico-químicas, incluindo a caracterização dos compostos bioativos e as atividades antioxidantes, assim como a qualidade higiênico-sanitárias e a suas comunidades microbianas.

Os resultados dos valores médios apresentaram em conformidade com os comitês e normas reguladoras de sua qualidade, indicando a uniformidade e a qualidade do mel produzido na região. Vale ressaltar que o trabalho de extensão com os produtores deve-se continuar devido a alguns indicadores em inconformidades com os comitês normativos.

Se faz necessário a aplicação e cumprimento de técnicas simples de boas práticas de qualidade, produção e fabricação de alimentos como, as roupas limpas que os trabalhadores devem usar, unhas bem cortadas e lavadas antes do manuseio do mel, a utilização do gorro de cabelo, mascara, jaleco, calça e bota em todo o processo de extração. A casa do mel deve estar devidamente higienizada e vedada para que não ocorra a entrada de insetos e roedores. Os equipamentos quando não estiver em uso, devem ser armazenados e cobertos, protegendo-os de possíveis contaminantes.

A aplicação de práticas de manejo e manuseio a campo como, coletar os quadros de mel devidamente operculados, evitando em colocar as melgueiras em contato direto ao solo ou superfícies sujas. Realizar a limpeza e a higienização do veículo de transporte, assim como cobrir as melgueiras em todo processo de colheita e transporte até a casa de extração. Essas medidas básicas, entre outras, permitirá melhorar a qualidade higiênico-sanitárias do mel produzido na região.

Este estudo fornece uma avaliação mais abrangente e detalhada da composição das propriedades físico-químicas e dos compostos bioativos de algumas amostras de mel. Em conclusão, utilizando todos os parâmetros mencionados anteriormente, possibilita a entrada em novas pesquisas com um maior número de amostras, a fim de melhorar o interesse e conhecimento sobre mel da região e seus perfis de qualidade.