

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO – PPGAN  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UNIRIO

Ândria Santos

**ESTUDO DAS FRAÇÕES NÃO VOLÁTIL E VOLÁTIL DO MEL DE ANGICO**  
**(*Anadenanthera cf. colubrina*) ORIUNDO DA MATA ATLÂNTICA**

Rio de Janeiro  
2014

Ândria Santos

ESTUDO DAS FRAÇÕES NÃO VOLÁTIL E VOLÁTIL DO MEL DE ANGICO  
(*Anadenanthera* sp) ORIUNDO DA MATA ATLÂNTICA

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bastos De Maria.

Rio de janeiro  
2014

Ândria Santos

**ESTUDO DAS FRAÇÕES NÃO VOLATIL E VOLÁTIL DO MEL DE ANGICO**  
**(*Anadenanthera cf. colubrina*) ORIUNDO DA MATA ATLÂNTICA**

Dissertação de Mestrado apresentada no Programa  
de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição, da  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Carlos Alberto Bastos De Maria  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO

---

Profa. Dra. Claudia Cardoso Netto  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

---

Prof. Dr. Geraldo Ceni Coelho  
Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Santos, Ândria.

Estudo das frações não volátil e volátil do mel de angico (*Anadenanthera* sp) oriundo da mata atlântica.

144 f; 30 cm

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, 2014.

1. Composição química. 2. Mel. 3. Aroma 4. Angico. 5. Voláteis

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha querida mãe,  
Lucibel da Silva Andrade, uma mulher  
incrível, minha amiga, que me educou, me  
apresentou o universo do saber e me apoiou  
em minha jornada discente apesar de todas as  
dificuldades, mostrando que com força de  
vontade e fé podemos superar qualquer  
obstáculo na busca da realização dos nossos  
sonhos.

## AGRADECIMENTOS

Àqueles que fizeram parte da minha caminhada até aqui:

À minha família, meu porto seguro, que sempre acreditou em mim e não me deixou desanimar diante das adversidades: minha mãe; meu pai José Edmundo, meus irmãos Marlon, Dílon, Sandy e Carla; Minhas sobrinhas encantadoras Naila e Naomi.

Ao meu orientador, prof. Carlos Alberto Bastos De Maria, que foi para mim um verdadeiro mestre e amigo.

Ao meu noivo, Daniel Chreem, com o qual uni sonhos e o mestrado foi um deles. Meu companheiro de todas as horas, com quem compartilhei ideias, anseios, dúvidas e também encontrei respostas.

Aos queridos mestres que fizeram parte da minha vida acadêmica. Àqueles que me conduziram ao saber, me apresentaram diferentes pontos de vista, me ensinaram o senso crítico e acreditaram no meu potencial. Em especial à prof<sup>a</sup> Patrícia Maria Périco Perez (UERJ) e o prof. Ricardo Felipe Alves Moreira.

Aos profissionais nutricionistas que me ensinaram parte das suas experiências quando ainda era graduanda, ampliando para mim o universo de possibilidades profissionais que a carreira tem a oferecer. Em especial à Ananda Lages Rodrigues, excelente pessoa e pesquisadora, e às grandes expoentes da profissão que tive o privilégio de conhecer: Bia Rique e Nelzir Trindade Reis.

À Neila Lopes Nunes, amiga que diversas vezes me estendeu as mãos e me emprestou seus ouvidos durante a minha graduação.

Aos amigos que torceram por mim e compreenderam meus períodos de ausência. Em especial à amiga Juliana Gomes.

Aos colegas de mestrado, que completaram o time e ao mesmo tempo fizeram parte da torcida. Em especial a Liza Riachi pelo grande apoio e amizade.

À UNIRIO pela iniciativa do programa de pós-graduação, agora mais uma possibilidade para aqueles que almejam a carreira acadêmica na área de Alimentos em Nutrição.

*“O conhecimento nos faz responsáveis.”*

(Che Guevara)

## RESUMO

Foram avaliados 18 parâmetros químicos de méis tropicais de angico, provenientes da Mata Atlântica (*Anadenanthera cf. Colubrina*). Os teores de água estavam na faixa de 15,80-18,00 % que concordaram com os encontrados em méis de diferentes tipos florais de bioma caatinga, mas foram menores que os da Mata Atlântica do sudeste do Brasil. A prolina livre (295-450 mg kg<sup>-1</sup>) foi significativamente ( $p < 0,05$ ) menor em comparação com a de outros méis de Mata Atlântica, Caatinga e Cerrado biomas. A acidez total das amostras analisadas apresentou uma variação de 16,40-18,00 millieq Kg<sup>-1</sup>, que foi de acordo com o encontrado na Mata Atlântica do sudeste (15,60-17,90 millieq Kg<sup>-1</sup>). Estes resultados, por outro lado, foram diferentes das do bioma caatinga, que mostrou uma grande variação de 10,00-53,80 millieq Kg<sup>-1</sup>. Méis da Mata Atlântica e Cerrado tiveram uma HMF significativamente inferior ao angico ( $p < 0,05$ ). A atividade diastásica estava na faixa de 11,40 – 12,40°G que foi menor que do morrão de candeia (13,20 – 16,70°G) e assa-peixe (13,20 - 18,50°G) méis de mata atlântica e cerrado, respectivamente. A frutose (41,90-43,30 %) e glicose (32,60-34,20%) foram ligeiramente maiores do que o de Cerrado e de forma significativa ( $p < 0,05$ ) maior do que a da Caatinga. Os valores médios para turanose (1,76-2,31 g %), nigerose (1,66-2,15 g %), sacarose (0,83-1,16 g %), isomaltose (0,00 g %), panose (0,00-0,03 g %) e rafinose (0,06 - 0,15 g %) em angico foram significativamente ( $p < 0,05$ ) diferentes do que os de outros méis de Mata Atlântica e Caatinga. A Utilização de análise de agrupamento permitiu agrupar os três tipos de mel em grupos independentes. O angico ficou mais próximo ao outro mel da Mata Atlântica e ambos ficaram distantes de mel caatinga. A turanose, nigerose, panose e isomaltose foram os principais contribuintes para a diferenciação das amostras. Estes resultados indicam que a análise de agrupamento, parece ser capaz de agrupar os méis tropicais brasileiras de acordo com o tipo floral. GC/SNIFFING mostrou que o óxido de linalol, 2-ethyhexanol, feniletanol e o ácido fenilacético podem ser importantes contribuintes para o sabor angico. O hotrienol e a maltotriose podem ser úteis no futuro, para testar a autenticidade de angico.

Palavras-chaves: compostos voláteis, angico, composição química, mel.



## ABSTRACT

Levels of 18 parameters in tropical angico (*Anadenanthera cf. colubrina*) honeys from Atlantic forest are reported. The water contents were in the range of 15.80-18.00 % which agreed with those found in honeys of different floral types from Caatinga biome, but were lower than those of the Atlantic forest from southeastern Brazil. Free proline (295-450 mg Kg<sup>-1</sup>) was significantly (p<0.05) lower compared to that from other honeys from Atlantic forest, Caatinga and Cerrado biomes. The total acidity of the analysed samples showed a variation of 16.40-18.00 millieq Kg<sup>-1</sup> which was according to that found in Atlantic forest of southeastern (15.60-17.90 millieq Kg<sup>-1</sup>). These results on the other hand were different from those of the Caatinga biome that showed a wide variation of 10.00-53.80 millieq Kg<sup>-1</sup>. Honeys from Atlantic forest and cerrado had a significantly (p<0.05) lower HMF than angico. Diastase activity lay in the range of 11.40-12.40°G which was lower than that from morrão de candeia (13.20-16.70°G) and assa-peixe (13.20-18.50°G) honeys from Atlantic forest and Cerrado biome, respectively. Fructose (41.90-43.30 %) and glucose (32.60-34.20 %) were slightly higher than that from Cerrado and significantly (p<0.05) higher than that from Caatinga. Mean values for turanose (1.76-2.31 g%), nigerose (1.66-2.15 g%), sucrose (0.83-1.16 g%), isomaltose (0.00 g%), panose (0.00-0.03 g%) and raffinose (0.06-0.15 g%) in angico were significantly (p<0.05) different than those from other honeys from Atlantic forest and caatinga. Use of cluster analysis permitted to group three kinds of honey into independent groups. Angico was closest to other honey from Atlantic forest and both were distant from caatinga honey. Turanose, nigerose, panose and isomaltose were major contributors to the differentiation of samples. These findings indicate that cluster analysis appears to be able to group Brazilian tropical honeys in accordance with floral type. GC/SNIFFING showed that linalool oxide, 2-ethylhexanol, phenylethanol and phenylacetic acid may be important contributors to the angico flavour. Hotrienol and maltotriose may be useful in future to testing the angico authenticity.

Keywords: volatile compounds, angico, chemistry composition, honey.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Produção e consumo mundial de mel.	18
<b>Figura 2.</b>	Conversão enzimática de D-glicose em ácido glicônico.	22
<b>Figura 3.</b>	Molécula de HMF.	27
<b>Figura 4.</b>	Estruturas químicas baseada em projeções de Haworth. A) $\alpha$ -D-Glicopiranosil- $\beta$ -D-frutofuranose (sacarose); B) $\beta$ -D-frutofuranose; C) $\alpha$ -D-glicopiranosose.	32
<b>Figura 5.</b>	Reação de transglicosilação catalisada pela invertase.	35
<b>Figura 6.</b>	Estrutura química dos principais fruto-oligossacarídeos: (A) 1-cestose, (B) nistose e (C) frutofuranosilnistose.	40
<b>Figura 7.</b>	Cromatogramas de HMFpadrão e de amostras de angico (A1).	60
<b>Figura 8.</b>	Cromatogramas de monossacarídeos das misturas padrão e de amostras de angico (A1).	63
<b>Figura 9.</b>	Dendograma de cluster analysis de amostras de méis tropicais.	65
<b>Figura 10.</b>	Perfis de classes de méis tropicais brasileiros.	67
<b>Figura 11.</b>	Cromatograma de oligossacarídeos das misturas padrões.	68
<b>Figura 12.</b>	Cromatograma de oligossacarídeos das misturas padrões.	69
<b>Figura 13.</b>	Cromatograma de oligossacarídeos da amostra A1.	70
<b>Figura 14.</b>	Cromatograma de oligossacarídeos da amostra A1.	71
<b>Figura 15.</b>	Estrutura química de alguns compostos voláteis identificados no mel de angico.	73

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Teor de umidade em méis monoflorais.	20
<b>Tabela 2.</b>	Valores de acidez total e pH em méis monoflorais.	23
<b>Tabela 3.</b>	Valores de prolina em méis monoflorais.	25
<b>Tabela 4.</b>	Valores de HMF em méis monoflorais.	28
<b>Tabela 5.</b>	Atividade diastásica em méis monoflorais.	30
<b>Tabela 6.</b>	Glicídios em méis monoflorais.	41
<b>Tabela 7.</b>	Compostos de aroma de maior impacto em méis monoflorais.	48
<b>Tabela 8.</b>	Parâmetros químicos em amostras de mel de angico.	58
<b>Tabela 9.</b>	Perfil de oligossacarídios em amostras de méis tropicais de angico, Morrão de candeia e marmeleiro	64
<b>Tabela 10.</b>	Compostos voláteis do mel de angico.	72

## LISTA DE SIGLAS

pH	Potencial de hidrogênio
D.P.	Desvio padrão
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidante Power</i>
HMF	Hidroximetilfurfural
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CG	Cromatografia gasosa
DIC	Detector por ionização em chama
ISO	Isomaltose
ERL	Erlose
RAF	Rafinose
PAN	Panose
MEL	Melezitose
MTR	Maltotriose
FRU	Frutose
GLI	Glicose
GLP1	Peptídio semelhante ao glucagon
SAC	Sacarose
MAL	Maltose
TUR	Turanose
NIG	Nigerose
MEB	Melebiose
ND	Não detectado
HD	Hidrodestilação
LLE	<i>Liquid-liquid extraction</i>
SDE	<i>Simultaneous extraction-distillation</i>
LNSDE	<i>Likens-Nickerson Simultaneous extraction-distillation</i>
MSDE	<i>Simultaneous microextraction solvent steam distillation</i>
DDMP	2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi -6-metil-4(H)-piran-4-ona
EFS	Extração em fase sólida
SPME	<i>Solid phase microextraction</i>
HS-SPDE	<i>Headspace - dynamic solid phase extraction</i>

CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SAFE	<i>Solvent Assisted Flavour Evaporation</i>
AEDA	<i>Aroma extract dilution analysis</i>
FD	Fator de diluição
VAO	Valores de atividade de odor
NaOH	Hidróxido de sódio
HCl	Cloreto de hidrogênio
IK	Índice de <i>Kovats</i>
ANOVA	Análise de variância
IR	Índice refratométrico

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
2.1 COMPOSTOS NÃO VOLÁTEIS.....	18
2.1.1.Umidade .....	18
2.1.2.Acidez.....	21
2.1.2. Prolina .....	24
2.1.3. Hidroximetilfurfural (HMF).....	26
2.1.4. Diastase .....	29
2.1.5. Glicídios .....	31
2.1.5.1 <i>Monossacarídios</i> .....	31
2.1.5.2 <i>Oligossacarídios</i> .....	36
2.2. COMPOSTOS VOLÁTEIS .....	43
2.3 MEL DE ANGICO.....	49
<b>3. OBJETIVOS GERAIS .....</b>	<b>50</b>
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	50
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>51</b>
4.1 AMOSTRAS E REAGENTES .....	51
4.2 FRAÇÃO NÃO VOLÁTIL.....	52
4.2.1. Umidade .....	52
4.2.2. Acidez.....	52
4.2.3. pH.....	52
4.2.4. Prolina livre .....	52
4.2.5. Atividade diastásica.....	53
4.2.6. HMF .....	53
4.2.7. Glicídios .....	54
4.3 FRAÇÃO VOLÁTIL .....	54
4.3.1. Isolamento dos compostos voláteis .....	54
4.3.2. CG – DIC.....	55
4.3.3. CG- EM .....	55
4.3.4. CG-Sniffing.....	55
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	56
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>

<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>74</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>75</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>92</b>
<b>ANEXO A. MANUSCRITO SUBMETIDO AO BOLETIM DE PESQUISA DO CENTRO DE PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS.....</b>	<b>92</b>
<b>ANEXO B. MANUSCRITO SUBMETIDO À REVISTA FOODCHEMISTRY.....</b>	<b>122</b>
<b>ANEXO C. RESUMO APRESENTADO NA FORMA DE PÔSTER NO 10º SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS (SLACA), CAMPINAS, 2013, SOB O TÍTULO: STUDY OF THE PRINCIPAL CONSTITUENTS OF TROPICAL ANGICO (ANADENANTHERA SP.) HONEY FROM ATLANTIC FOREST.....</b>	<b>143</b>

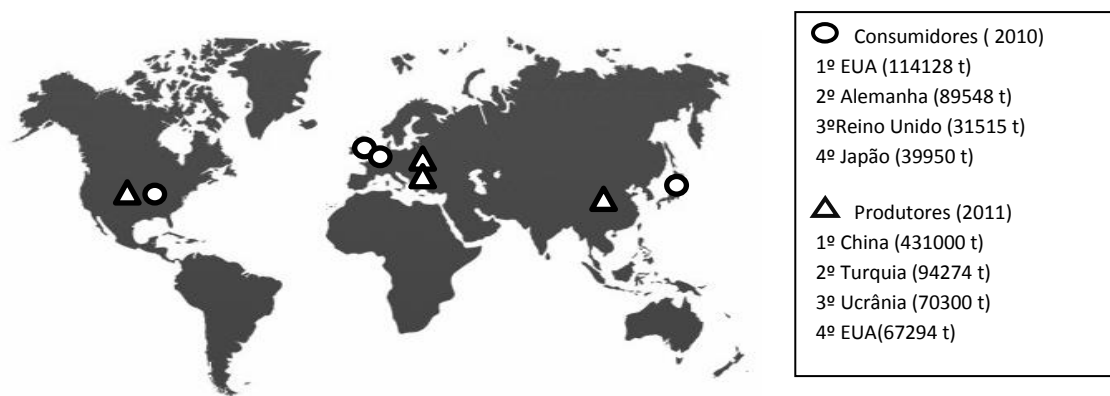
## 1. INTRODUÇÃO

O mel é um produto de origem animal com sabor doce natural utilizado como alimento pelo homem desde a pré-história, apesar de apenas 2% das espécies de abelhas serem melíferas. Entre as espécies produtoras, as do gênero *Apis* são as mais conhecidas e difundidas (EMBRAPA, 2003). Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (2000), *mel é o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia*. Pode ser classificado em monofloral ou unifloral, quando procede de néctar extraído da mesma origem de flores (espécie, gênero ou família), e multifloral ou polifloral, quando é elaborado a partir de néctar obtido de diferentes origens florais. Os méis produzidos a partir de secreções procedentes de partes vivas das plantas ou excreções de insetos sugadores são classificados como melato (LÍRIO, 2010; IGWE et al., 2012; CODEX ALIMENTARIUS, 2004).

Ele é composto por cerca de 180 substâncias diferentes como oligossacarídeos, enzimas, compostos nitrogenados, ácidos orgânicos, vitaminas, minerais, compostos voláteis, compostos fenólicos ácidos, flavonóides, pigmentos e grãos de pólen, podendo conter ainda cera de abelhas procedente do processo de extração. Seus principais constituintes são água, frutose e glicose. (BRASIL, 2000; HOSNY, et al., 2009; KHALIL et al., 2012). Embora a água e os glicídios representem 95 % ou mais do peso total, o mel é uma matriz alimentar de elevada complexidade (AZEREDO et al., 2003).

O seu consumo como alimento tem por finalidade adoçar e agregar sabor a bebidas, molhos, produtos de panificação entre outras diversas preparações dietéticas (FEA et al., 2010). Contudo, apresenta ampla utilização não somente como alimento, porém também na conservação de frutas e grãos; como medicamento devido às suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e cicatrizantes, possuindo ainda ação probiótica devido ao seu perfil de oligossacarídeos (VARGAS, 2006; MEDA et al., 2005; HOSNY et al., 2009; OUCHEMOUKH et al., 2012). A quantidade *per capita* consumida no mundo é variável conforme a região geográfica e classe social da população (Figura 1). Na América Central ocorre o maior consumo *per capita* com 380 g por ano, seguido da Grécia e Ucrânia ambas com *per capita* anual de 150 g. Na África, o maior consumo *per capita* vem de Angola com 140 g (FAO, 2009).





**Figura 1.** Produção e consumo mundial de mel.

Fonte: adaptado de FAO (2009).

A qualidade do mel é definida pelas suas características sensoriais, físico-químicas e microbiológicas (KHALIL et al., 2012), as quais são normatizadas através dos parâmetros apresentados no Codex Alimentarius (2004) e diretrizes da União Européia (2002). Diferenças na composição química do mel estão diretamente relacionadas às condições de sua produção, a qual depende da abundância e origem das flores na área de ação das abelhas, qualidade do néctar, tipo de pólen, condições climáticas e de estocagem (AZEREDO et al., 2003). Assim, uma vez que a flora brasileira é muito diversificada, devido à sua extensão territorial e a variabilidade do clima existente, é essencial caracterizar os méis monoflorais brasileiros e estabelecer padrões de identidade, tendo em consideração a vasta diversidade botânica e variações climáticas específicas de cada região (ALVES et al., 2011). Muitos méis monoflorais são encontrados nos biomas brasileiros ameaçados, como é o caso dos méis de morrão de candeia (*Croton* sp.) da Mata Atlântica e de marmeleiro (*Vernonia* sp.) do cerrado. Uma parte dos méis desses biomas ainda encontra-se sem caracterização da composição química, como é o caso do mel de angico (*Anadenanthera* cf. *colubrina*) achado em mata atlântica do litoral sul do país. Portanto, o presente estudo visa analisar as frações não volátil e volátil do mel de angico, a fim de se obter um melhor conhecimento da composição química desta variedade de mel.

## 1. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 COMPOSTOS NÃO VOLÁTEIS

#### 2.1.1 Umidade

O conteúdo de água é um parâmetro muito importante para avaliar a qualidade do mel, influenciando diretamente os seguintes aspectos: viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização e conservação. A água presente no mel apresenta forte interação com os glicídios, diminuindo sua disponibilidade para o desenvolvimento microbiológico. Portanto, méis com elevada umidade são mais suscetíveis à fermentação. A umidade no mel não deve exceder 20 % conforme padrão de identidade e qualidade estabelecido por órgãos nacionais e internacionais (CODEX ALIMENTARIUS, 2004; MAPA, 2000). Estudos realizados na América do Sul mostraram teores de umidade entre 18,3 % a 18,8 % para amostras de méis poliflorais e valores de 12,3 % a 18,5 % em méis monoflorais (COSTA et al., 1999; ALVES et al., 2011; BENDINI & SOUZA, 2008; NAAB et al., 2012; PONTARA et al., 2012; SGARIGLIA et al., 2010; VIT et al., 2009; CORTOPASSI-LAURINO; GELLI, 1991). Amostras de méis comerciais analisadas na Ásia apresentaram teor de 16% de umidade (KAHRAMAN et al., 2010). Já méis poliflorais produzidos na África apresentaram uma grande variação partindo de 13,2 % a 19,1 % em amostras da Argélia, enquanto que em méis da Etiópia a umidade variou entre 18,6% a 18,8% (KHALIL et al., 2012; NIGUSSIE et al., 2011; OUCHEMOUKH et al., 2007). Em méis da Europa foram encontrados de 14,0 % a 19,2 % de umidade, dentre amostras monoflorais e poliflorais (GOMES et al., 2010; IGLESIAS et al., 2012; KASPEROVÁ et al., 2012; KIRS et al., 2011; SALONEN; JULKUNEN-TIITTO, 2012). Tais variações do conteúdo de umidade do mel são devido a variáveis como: época de colheita, fatores climáticos, grau de maturação na colmeia e manipulação dos apicultores no período de colheita (KUROISHI et al., 2012; SANCHEZ et al., 2010; KAHRAMAN et al., 2010; FILHO et al., 2011; KUROISHI et al., 2012; GOMES et al., 2010; IGLESIAS et al., 2012; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013). Dessa forma, a análise de umidade é uma ferramenta que pode ser utilizada para avaliar condições de vida de prateleira, adulteração por adição de água e grau de maturação adequado à colheita, não sendo adequada para indicar a região geográfica ou espécie floral de origem do mel. Na Tabela 1 é

listado um grupo de estudos descrevendo o teor de umidade em méis monoflorais do Brasil e do exterior.

**Tabela 1.** Teor de umidade em méis monoflorais.

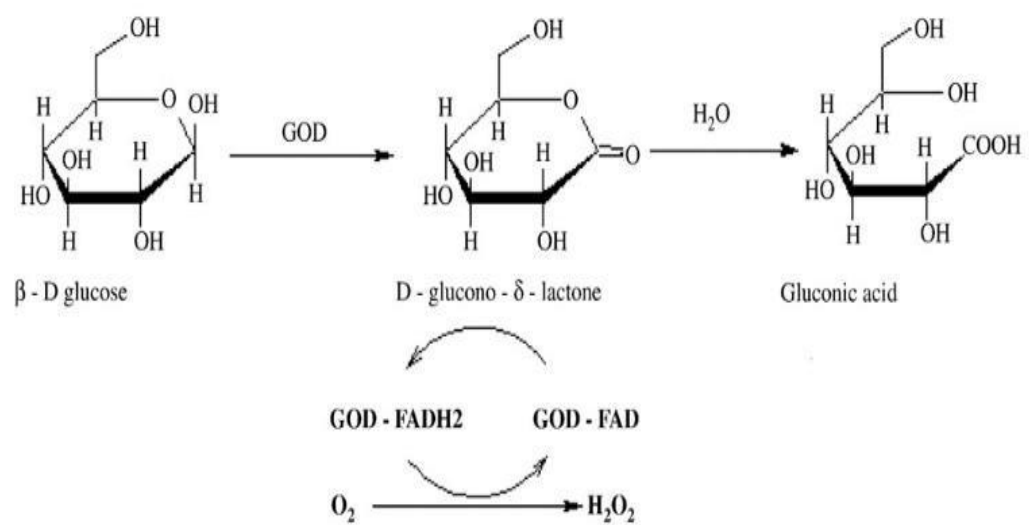
Tipo de mel	Origem botânica	Origem geográfica	Umidade (Média±DP em %)	Referência
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Brasil	18,8±0,1	Costa et al. (1999)
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> sp.		17,5±0,5	
Mel de assa-peixe	<i>Vernonia</i> sp.		17,9±0,4	Matos et al. (2002)
Mel de flor de cajueiro	<i>Anacardium occidentale</i> L		18,4± 0,6	Bendini e Souza (2008)
Mel de “pusquillo”	<i>Plebeia wittmanni</i>	Argentina	12,3±1,7	Sgariglia et al. (2010)
Mel de “piquillín”	<i>Condalia microphylla</i> Cav		15,8± 0,7	Naab et al. (2012)
Mel de “abrepuno amarillo”	<i>Centaurea solstitialis</i> L.		17,4±0,9	
	<i>Prosopis</i> spp		15,4 ±1,1	
Mel de flor de mandioca	<i>Manihot esculenta</i> Crantz	Brasil	18,1±0,01	Pontara et al. (2012)
Mel de “angelito”	<i>Tetragonisca angustula fiebrigi</i>	Eslováquia	17,0 ±1,8	Kasperová et al. (2012)
Mel de acácia	<i>Acacia</i> spp		17,8±1,1	Salonen & Julkunen-Tiitto (2012)
Mel de “lingonberry”	<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	Finlândia	16,6±0,5	Salonen e Julkunen-Tiitto (2012)
Mel de “mire”	<i>Rubus chamaemorus</i> , <i>Menyanthes trifoliata</i>		16,6±0,3	
Mel de trigo sarraceno	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Itália	17,2±0,7	Pasini et al. (2013)
Mel de alfarrobeira	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Itália	19,8±1,6	Ferrauto e Pavoni (2013)

DP = desvio padrão

### 2.1.2. Acidez

A acidez do mel é originária de duas fontes: ácidos orgânicos oriundos de diferentes fontes de néctar e ação da enzima D-glicose oxidase que catalisa a conversão de D-glicose em ácido glicônico (Figura 2) o qual corresponde a cerca de 70-90 % dos ácidos orgânicos do mel. Esse ácido está em equilíbrio com suas lactonas correspondentes (ABADIO FINCO; MOURA; SILVA, 2010). Outros tipos de ácidos orgânicos também podem ser encontrados no mel, como os ácidos: acético, butírico, cítrico, fórmico, láctico, málico, piroglutâmico e succínico (NATIONAL HONEY BOARD, 2004). Inclusive a concentração de ácido cítrico pode ser utilizada como um parâmetro para diferenciar mel floral de mel de melato, já que este último tem um teor elevado desse ácido (SUARÉZ-LUQUE, 2002; BELAY et al., 2013). A acidez do mel pode ainda ser influenciada pela ação bacteriana durante a etapa de maturação e pelo seu conteúdo mineral (PONTARA et al., 2012; ALQARNI et al., 2012). Na Tabela 2, podem-se observar variações importantes entre o conteúdo de acidez em méis de mesma origem floral produzidos no mesmo país, porém em regiões diferentes, como o caso do mel de eucalipto, o qual apresentou teores de acidez desde 13 meq kg<sup>-1</sup> até 38,5 meq kg<sup>-1</sup>. Valores de acidez livre acima de 50 meq kg<sup>-1</sup> (CODEX ALIMENTARIUS, 2004) indicam que houve processo de fermentação dos açúcares pelas leveduras. Durante tal fermentação, a glicose e a frutose são convertidas em dióxido de carbono e alcoóis, sendo esses últimos hidrolisados na presença de oxigênio e convertidos em ácidos (ácido acético, principalmente) (AJLOUNI; SUJIRAPINYOKUL, 2009).

O valor de pH, assim como o de acidez total, é influenciado pela origem floral do mel, porém não constitui marcador específico. Em análises de méis monoflorais de diversos estudos é possível observar que os valores de pH variam dentro de uma faixa, geralmente entre 3,0 e 4,5 sem que haja pontos específicos conforme variedade floral (Tabela 2), embora a faixa de pH comumente referida na literatura para méis florais seja de 3,5-4,5 (BELAY et al., 2013). Contudo, ele constitui um importante parâmetro de vida de prateleira, sofrendo variações conforme as condições de extração e armazenamento. Méis muito ácidos podem indicar uma possível fermentação de açúcares em ácidos orgânicos, devido à contaminação microbiana (KHALIL et al., 2012; NIGUSSIE et al., 2011; CORBELLA et al., 2006; ISLAM et al., 2012; PAISINI et al., 2013).



**Figura 2.** Conversão enzimática de D-glicose em ácido glicônico.

**Tabela 2.** Valores de acidez total e pH em méis monoflorais.

Tipo de mel	Origem botânica	Origem geográfica	pH	Acidez total (meq kg <sup>-1</sup> ) (Média±DP)	Referência
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Brasil	-	22,8±5,9	Costa et al. (1999)
Mel de laranja	<i>Citrus</i> sp.		-	13,7±3,5	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.		3,6 ± 0,43	33,8±11,6	Marchini et al. (2007)
Mel de laranja	<i>Citrus</i> sp.		3,2 ± 0,4	21,7±7,3	
Mel de flor de cajueiro	<i>Anacardium occidentale</i> L		3,7± 0,09	30,2± 4,5	Bendini e Souza (2008)
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp		3,7± 0,4	-	
Mel de flor de mandioca	<i>Manihot esculenta</i> Crantz		4,1 ± 0,01	49,9±0,20	Pontara et al. (2012)
Mel de laranja	<i>Citrus</i> sp.	Uruguai	3,2± 0,16	-	Corbella et al. (2006)
Mel de “piquillín”	<i>Condalia microphylla</i> Cav	Argentina	4,7 ± 0.16	25,7± 4,5	Naab et al. (2012)
Mel de “abrepuño amarillo”	<i>Centaurea solstitialis</i> L.		3,6 ± 0,23	21,4 ±4.9	
Mel de laranja	<i>Citrus</i> spp.	Arábia Saudita	3,3*	21,5*	Alqarni et al. (2012)
Mel de cravo	<i>Trifolium alexnadrinum</i>		3,23*	20,5*	
Mel de algodão	<i>Gossypium barbadense</i>		3,21*	58,5*	
Mel de trigo sarraceno	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Itália	4,2± 0.4	30± 9,6	Pasini et al. (2013)
Mel de alfarrobeira	<i>Ceratonia siliqua</i> L.		4,02± 0.34	30,51± 6,42	Ferrauto e Pavone (2013)

DP = desvio padrão; \*Não há informação sobre o DP.

### 2.1.2 Prolina

A concentração de proteínas e aminoácidos varia conforme a origem botânica, geográfica e tempo de estocagem, e corresponde a 0,2 a 0,4 mg100g<sup>-1</sup> de mel (ALVAREZ et al., 2011). Mohammed e colaboradores (2012) conseguiram diferenciar amostras de méis poliflorais e monoflorais através da diferenciação dos seus perfis de aminoácidos utilizando a espectrometria de massas. Outro estudo com méis da Austrália identificou os principais aminoácidos presentes nas amostras e realizou a diferenciação das origens botânicas usando análise multivariada, tais quais: análise discriminante, componentes principais e *cluster analysis*. (MOHAMMED; BABIKER, 2010). O teor de compostos nitrogenados é representado, principalmente, pela presença de enzimas (diastase, invertase e glicose oxidase) e alguns aminoácidos livres (18 aminoácidos essenciais e não-essenciais) (JAGDISH; JOSEPH, 2004), dentre os quais a prolina é o mais abundante, representando 80 a 90% do teor total (MOREIRA et al., 2007). É um aminoácido importante que se origina principalmente a partir de secreções salivares de abelhas melíferas durante a conversão de néctar em mel. O seu teor no mel também indica grau de maturação e, em alguns casos, adulteração por adição de açúcar devido à redução do teor de prolina em valores relativos (BOGDANOV et al., 1999). Amostras de méis comerciais da Argélia apresentaram teores de prolina de 1692-2712 mg kg<sup>-1</sup>. Estudo com méis monoflorais mexicanos verificou uma correlação positiva entre o conteúdo de prolina e o potencial antioxidante através de ensaio de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidante Power*) (RODRIGUEZ et al., 2012). Janiszewska e colaboradores (2012) analisaram a composição de méis poloneses e concluíram que o teor de prolina não é capaz de indicar a origem botânica do mel, dada a sua variabilidade entre as amostras de mesma origem. Além disso, a prolina é um composto que praticamente não se altera quando o mel é aquecido e parece haver uma correlação entre este parâmetro e a atividade da invertase. Estudos sugerem que o conteúdo de prolina pode ser utilizado como um marcador da atividade de invertase no mel. Dessa forma, se o mel é aquecido será encontrada atividade reduzida desta enzima e conteúdo elevado de prolina. Caso o teor de prolina seja pequeno juntamente com baixa atividade da invertase, provavelmente a atividade enzimática é devido a uma peculiaridade do produto (MOREIRA et al., 2010). Na Tabela 3, são apresentados valores médios em diferentes méis monoflorais.



**Tabela 3.** Valores de prolina em méis monoflorais.

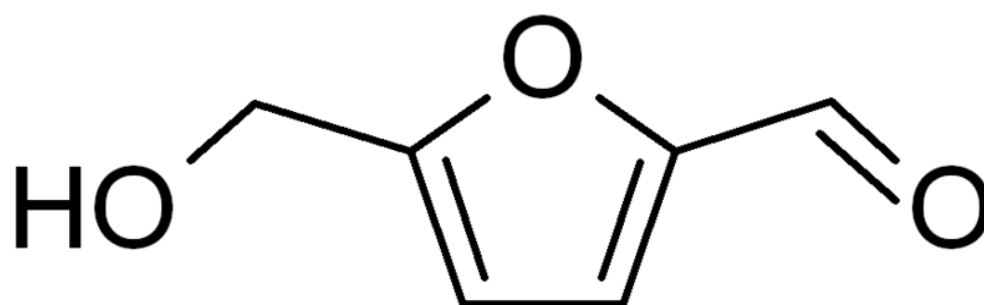
Tipo de mel	Origem botânica	Origem geográfica	Prolina (mgkg <sup>-1</sup> ) (Média±DP)	Referência
Mel de flor de sino	<i>Campanula persicifolia</i>	México	441,3 ±29,1	Rodriguez et al. (2012)
Mel de cacto	<i>Opuntia ficus-indica</i>		439,3 ±8,9	
Mel laranjeira	<i>Citrus sinensis</i>		307,7 ±4,4	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus globulus labill</i>		387,4 ±3,7	
Mel de caujiñiquil	<i>Inca punctata</i> (Willd)		569,4 ±2,4	
Mel de acácia	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	Polônia	225,7±43,9	Janiszewska et al. (2012)
Mel de framboesa	<i>Rubus ideaus</i> L.		189,1±104,0	
Mel de trigo sarraceno	<i>Fagopyrum esculentum</i> M.		227,8±78,3	
Mel de urze	<i>Calluna vulgaris</i> L.		284,1±135,6	
Mel laranjeira	<i>Citrus sinensis</i>	Espanha	185,4 ±126,5	Serrano et al. (2004)
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus globulus labill</i>		429.5± 285.0	
Mel de caju	<i>Anacardium occidentale</i>	Brasil	1402,6 ± 68,2	Moreira et al. (2002)

DP = desvio padrão.

### 2.1.3 Hidroximetilfurfural (HMF)

O HMF (Figura 3) resulta da desidratação de hexoses por aquecimento na presença de proteínas, consistindo de um produto intermediário da reação de *Maillard*, ou por aquecimento em meio ácido resultando na caramelização. Ele pode ocorrer em alimentos que contenham frutose e glicose. A presença de HMF é um indicador de aquecimento, armazenamento inadequado e adulteração com açúcar invertido, sendo verificado somente em pequenas quantidades em méis frescos (RISNER et al., 2006; BOGDANOV et al., 2004; AMRI; LADJAMA, 2013). Em geral, o HMF no mel não deve exceder a 40 mg kg<sup>-1</sup> conforme padrão de identidade e qualidade estabelecido por órgãos nacionais e internacionais (MAPA, 2000; UNIÃO EUROPÉIA, 2001). A União Européia estabelece as seguintes exceções: 80 mg kg<sup>-1</sup> para mel oriundo de regiões com temperaturas tropicais e 15 mg kg<sup>-1</sup> para méis com baixa atividade enzimática (<8 e >3 unidades de *Schade* ou *Gothe*).

O tratamento térmico do mel é realizado para reduzir a carga microbiana ou para modificar a tendência de cristalização (TRUZZI et al., 2012). Contudo, méis de países tropicais podem ter naturalmente um valor mais alto de HMF sem que o mel tenha sido superaquecido ou adulterado, devido a características climáticas peculiares da região dos trópicos (MARCHINI et al., 2005). Amostras de méis comerciais brasileiros foram armazenadas em refrigeração e à temperatura ambiente, verificando-se que o teor de HMF nas amostras armazenadas à temperatura ambiente foi 44,8 % maior do que as mantidas sobre refrigeração (MOURA et al., 2011). A aplicação de temperaturas de 30°C até 40°C resultam em menor formação deste composto furânico, sendo sua produção diretamente proporcional ao aumento de temperatura (SANZ et al., 2006; MORALES et al., 2009; TOSI et al., 2002). A sua formação nos alimentos depende, além do tipo de açúcar e pH, da atividade de água e do teor médio de cátions divalentes (RIZELIO et al., 2012; OZCAN et al., 2006). A importância da determinação de HMF em alimentos é devido a sua toxicidade. Este composto e os seus derivados (5-clorometil e 5-sulfidimetilfurfural) têm sido apontados como responsáveis pelos seguintes efeitos: citotóxico, genotóxico, mutagênico e cancerígeno. Para a determinação de HMF geralmente são utilizados os métodos espectrofotométricos e cromatográficos, sendo o primeiro mais usual (TRUZZI et al., 2012). Na Tabela 4, são mostrados valores médios de HMF em diferentes méis monoflorais.



**Figura 3.** Estrutura química do HMF.

**Tabela 4.** Valores de HMF em méis monoflorais.

Tipo de mel	Origem botânica	Origem geográfica	HMF (mgkg <sup>-1</sup> ) (Média±DP)	Referência
Mel laranja	<i>Citrus sinensis</i>	Itália	11,8*	Fallico et al.(2008)
Mel de castanha	<i>Castanea sativa</i>		0,8*	
Mel de marmeleiro	<i>Croton sonderianus</i> Müll. Arg	Brasil	0,3*	Silva et al. (2004)
Mel de jitirana	<i>Hyptis suaveolens</i>		9,0*	
Mel de camaratuba			1,4*	
Mel de angico de bezerro	<i>Cratylia mollis</i> Mart. ex Benth		3,4*	
Mel de caju	<i>Piptadenia moniliformis</i>		7,4 ± 0,3	Moreira et al. (2002)
Mel de marmeleiro	<i>Anacardiaceae</i> sp. <i>Rosaceae</i> sp.		2,8 ± 0,2	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> spp.	Espanha	10,9± 7,2	Serrano et al. (2004)
Mel de laranja	<i>Citrus</i> spp.		16,5 ± 16,5	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> spp.	Uruguai	13,4 ± 8,6	Corbella et al. (2006)
Mel de laranja	<i>Citrus</i> spp.		8,6 ± 3,8	
Mel de Pinha	<i>Pinus sylvestris</i>	Turquia	8,9*	Simsek et al. (2012)
Mel de Castanha	<i>Castanea Sativa</i>		23,8*	
Mel de lima	<i>Tilia</i> sp.	Polônia	33,8*	Kowalski et al. (2013)
Mel de acácia	<i>Robinia pseudoacacia</i>		22,4*	
Mel de trigo mourisco	<i>Fagopyrum</i> sp.		53,8*	

DP = desvio padrão. \*Não há informação sobre o DP.

#### 2.1.4 Diastase

Denomina-se por diastase qualquer enzima do grupo das enzimas que catalisa a quebra de amido em dextrinas (polímeros de glicose de massa molecular menor do que o amido), maltose, maltotriose e glicose (SAKAC; SAK-BOSNAR, 2012; BABACAN et al., 2002). A atividade diastásica é um parâmetro de qualidade usado para determinar se o mel foi submetido ou não ao aquecimento (TOSI et al., 2008; ALOISI et al., 2009; KIRS et al., 2011). Hebbbar e colaboradores (2003) verificaram que períodos de aquecimento de 60 a 90 s de duração em micro-ondas reduziu a atividade diastásica do mel por aproximadamente 50 % do seu valor original. Além disso, parece haver relação entre a sua atividade e a origem botânica do mel (KADAR et al., 2010). Porém, neste caso, é necessário analisar amostras frescas de mel (BOGDANOV et al., 2002). Serrano e colaboradores (2004) verificaram maior atividade diastásica em amostras de mel de citrus em relação ao de eucalipto. Contudo, a atividade diastásica não pode ser utilizada como único parâmetro para atestar a origem botânica do produto, sendo necessária a realização de outras análises (ex. análise polínica). A legislação de diversos países usa com critério de mel fresco a atividade diastásica mínima de 8°G na escala de *Gothe* (PIRES et al., 2009). Igwe e colaboradores (2012) analisaram méis de diferentes regiões da Turquia e verificaram valores de diastase entre 4°G e 10°G, atribuindo valores abaixo de 8°G às condições inadequadas de processamento e armazenamento. Em méis comerciais provenientes de diversas regiões da Arábia Saudita, a atividade diastásica variou de 4°G a 12,5°G, entretanto as amostras foram consideradas adequadas uma vez que neste país a legislação para méis considera valores adequados a partir de 3°G (AL-KHALIFA et al., 1999). Oddo e colaboradores (2008), analisando méis da Austrália, também encontraram atividade diastásica média de 4°G, porém os teores de HMF foram baixos. Nesse caso, considerou-se que a baixa atividade diastásica seria uma condição natural do mel analisado. Méis brasileiros orgânicos e não orgânicos, analisados por Sereia et al. (2011), não apresentaram diferenças quanto a atividade diastásica evidenciando que os pesticidas geralmente utilizados na agricultura não modificam a atividade catalítica dessa enzima na matriz melífera. Na Tabela 5, são mostrados valores médios de atividade diastásica em diferentes méis monoflorais.

**Tabela 5.** Atividade diastásica em méis monoflorais.

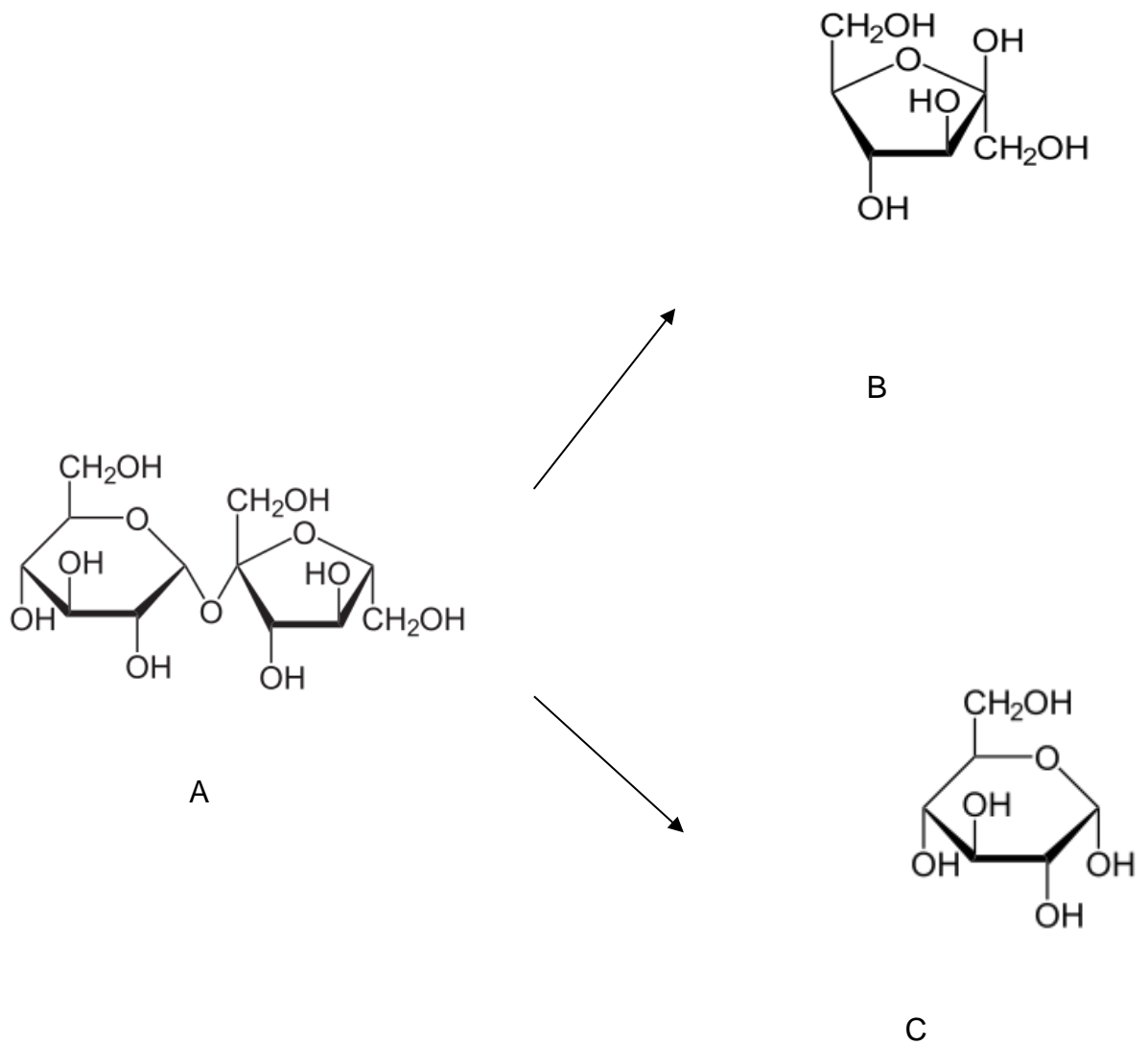
Tipo de mel	Origem botânica	Origem geográfica	Diastase (Média±DP)	Referência
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Algéria	15,9 ± 6,9	Makhloufi et al. (2010)
Mel de laranja	<i>Citrus</i> sp.		8,0 ± 1,4	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Marrocos	40,5±39,0	Terrab et al. (2002)
Mel de laranja	<i>Citrus</i> sp.		40.2±89,2	
Mel de salgueirinha	<i>Lythrum</i> sp.		34,7±24,9	
Mel de acácia	<i>Robinia pseudoacacia</i>	Espanha	12,7*	Kadar et al. (2010)
Mel de Tília	<i>Tilia</i> sp.		15,8*	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Brasil	13,3±4,5	Costa et al. (1999)
Mel de laranja	<i>Citrus</i> sp.		7,8±0,76	
Mel de caju	<i>Anacardiaceae</i> sp.		40,0 ± 0,88	Moreira et al. (2002)
Mel de alfarrobeira	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Itália	19,9± 2,8	Ferrauto e Pavone (2013)

DP = desvio padrão. \*Não há informação sobre o DP.

## 2.1.5 Glicídios

### 2.1.5.1 Monossacarídios

Os glicídios são compostos químicos predominantes no mel, sendo representados por mono- e oligossacarídios, com predominância da D-frutose e da D-glicose, as quais representam de 65-85 % do total de sólidos solúveis e 70-95 % dos glicídios totais. Cerca de 10 % da fração glicídica é composta por oligossacarídios (MOREIRA; DE MARIA, 2001; SANZ et al., 2004; RIZELIO et al., 2012). O teor glicídico na matriz depende da composição do néctar recolhido pelas abelhas, e da atividade da invertase, enzima que catalisa a hidrólise da sacarose liberando frutose e glicose (Figura 4). Um estudo analisou o conteúdo de néctar de diversas espécies de planta verificando a ocorrência de três padrões: néctar com alto teor de sacarose, néctar com quantidades aproximadamente iguais de glicose, frutose e sacarose e néctar com alto teor de glicose e frutose. Sendo assim, é possível concluir que existe uma relação entre os teores destes glicídios no mel e sua origem botânica, consistindo de um parâmetro complementar na identificação da origem botânica do mel. Embora a relação frutose e glicose (F/G) possa ser útil para esta finalidade, ela é um parâmetro pouco específico, já que uma parcela dos monossacarídios advém da ação da invertase (MOREIRA; DE MARIA, 2001). Entretanto, quando se usa outras variáveis além dos monossacarídios os resultados são mais consistentes. Um trabalho emblemático foi conduzido por Mateo e Bosch-Reig (1997) que foram capazes de discriminar diferentes tipos de méis monoflorais espanhóis usando variáveis discriminantes, tais quais: a condutividade elétrica, a cor, a umidade, a frutose e a sacarose. Eles alcançaram 95,7 % de confiabilidade na discriminação das seguintes variedades de mel: alecrim (*Rosmarinus officinalis*), gênero Citrus, lavanda (*Lavandula latifolia* Med.), girassol (*Helianthus annuus* L.), eucalipto (*Eucalyptus* sp.), urze (*Calluna vulgaris* L.) e melato (*Quercus* spp.). Em suma, os parâmetros supracitados foram eficientes para auxiliar na classificação de méis monoflorais mediante análise multivariada e, portanto, poderiam ser usados juntamente com a análise polínica para classificação inequívoca da origem botânica do mel.



**Figura 4.** Estruturas químicas baseada em projeções de *Haworth*.

A)  $\alpha$ -D-Glicopiranosil- $\beta$ -D-frutofuranose (sacarose); B)  $\beta$ -D-frutofuranose;

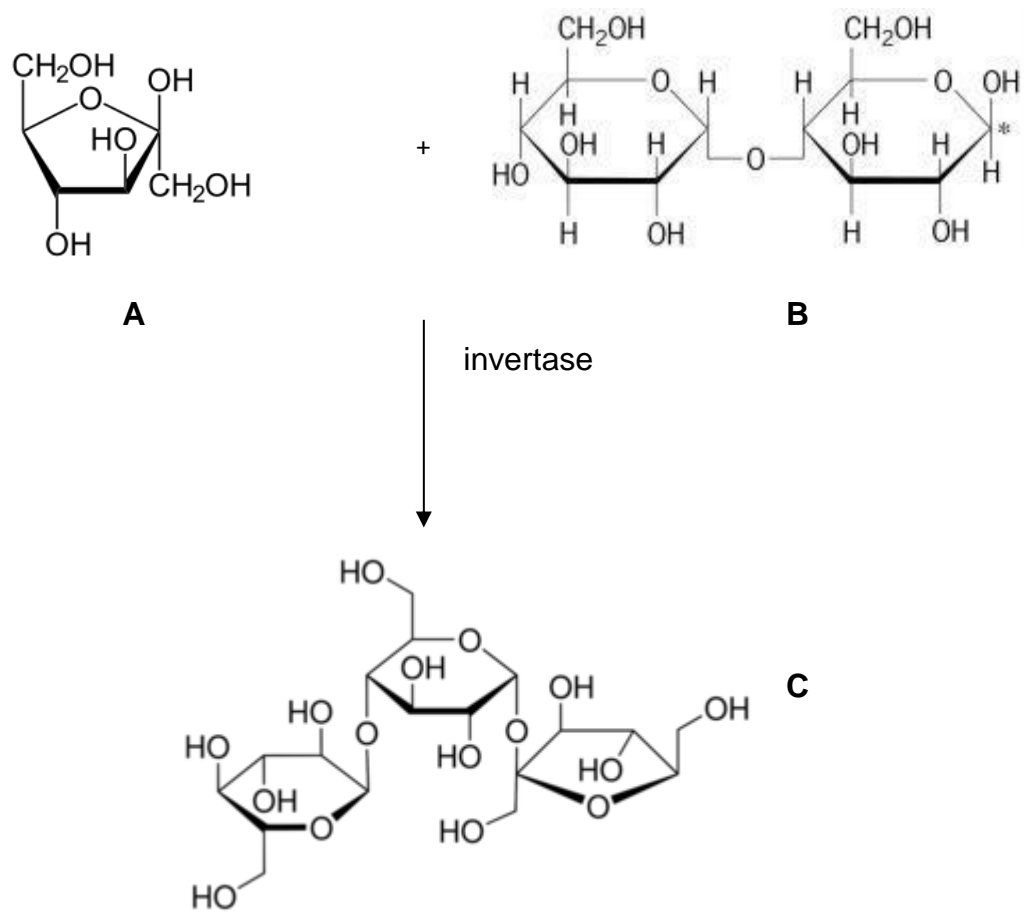
C)  $\alpha$ -D-glicopiranosose.



O conteúdo glicídico influencia alguns aspectos do mel como: viscosidade, valor energético e cristalização. A viscosidade atua também como um fator limitante ao crescimento microbiano dificultando a entrada de oxigênio na matriz. O elevado teor glicídico torna o mel um alimento altamente energético e com elevada osmolaridade, caracterizando um meio com elevada pressão osmótica e atividade de água baixa, favorável à vida de prateleira. A predominância de frutose, glicídico altamente solúvel, propicia a forma anidra da glicose e previne e/ou retarda a cristalização além de influenciar na característica dos cristais. As moléculas de água encontram-se ligadas aos glicídios principalmente por pontes de hidrogênio, na qual cada molécula de glicose encontra-se ligada a 5 moléculas de água (ABRAMOVIC et al., 2008; KUROISHI et al., 2012). Sendo assim, quanto maior a relação frutose/glicose no mel, menor será a sua suscetibilidade à cristalização (VENIR et al., 2010; LÍRIO et al., 2010). Outra forma de verificar a tendência de cristalização é através do índice obtido pela relação do conteúdo de glicose (G) em relação ao teor de água (A), onde valores de  $G/A \geq 2,10$  indicam maior tendência de cristalização enquanto valores de até 1,70 indicam menor inclinação (RODRIGUEZ et al., 2004). Porém, uma avaliação individual destes índices não é capaz de caracterizar variedades de méis do ponto de vista qualitativo quanto ao seu potencial de granulação, fato que seria bastante favorável mediante aspectos comerciais e de preferência do consumidor. A aplicação de análise estatística avançada parece ser um método substancial para este tipo de avaliação. ESCUREDO et al. (2014) puderam observar, mediante aplicação de teste de comparação múltipla de *Bonferroni*, correlações de *Spearman* e análise de componentes principais, uma forte correlação entre o tipo de pólen predominante no mel com seus respectivos teores de frutose, glicose e umidade em relação à tendência de cristalização. Em seu estudo, eles verificaram que méis com predominância de pólen de canola (*Brassica napus*), girassol (*Helianthus annuus*) e limão (*Tilia* sp.) são mais suscetíveis à formação de cristais, devido a um elevado teor de ambos: frutose (F), glicose (G) ( $p < 0,01$ ), umidade (U) ( $p < 0,01$ ), sacarose, soma de F + G e razão G/U. Esses valores estão associados a uma baixa relação F/G. Os méis monoflorais apresentam tendência natural a formar cristais finos e homogêneos. Quando a cristalização ocorre de maneira inadequada, durante a estocagem, pode levar à formação de um sobrenadante de coloração escura apresentando cristais de diâmetros maiores e irregulares. A separação de fases forma uma fase cristalina no fundo e uma fase líquida superficial, reduzindo a qualidade do produto para o consumidor. A camada superficial contém ainda conteúdo elevado de água, aumentando o risco de degradação por fermentação (KUROISHI et al., 2012; VENIR et al., 2010). A relação

frutose/glicose menor do que 1 além de favorecer a cristalização, também pode indicar adulteração por adição de açúcar comercial queimado e/ou alteração por crescimento de leveduras osmofílicas, que preferencialmente usam como substrato a frutose. Por outro lado, a presença de D-glicose confere características terapêuticas ao mel ao ser convertido à ácido D-glicônico através da ação da enzima D-glicose oxidase. Este processo enzimático gera como subproduto peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), antes conhecido como inibina, o qual possui atividade antimicrobiana (MOREIRA; DE MARIA, 2001).

Os teores de monossacarídeos podem reduzir-se durante a estocagem, devido a reações de transglicosilação que ocorrem em condições de pH ácido, promovendo a formação, principalmente, de dissacáridos e trissacáridos. Entretanto, em estudo realizado com méis da Espanha verificou-se que a formação de monossacarídeos a partir da hidrólise de glicídios mais complexos é um processo que predomina sobre a transglicosilação (CAVIA et al., 2002). Na Figura 5 é mostrada uma reação de transglicosilação. Na Tabela 6 é mostrada a distribuição de monossacarídeos em alguns méis monoflorais (incluída após o capítulo de oligossacarídeos).



**Figura 5.** Reação de transglicosilação catalisada pela invertase ( $A + B \longrightarrow C$ ).

A- ( $\beta$ -D-frutofuranose), (frutose);

B-  $\alpha$ -glicopiranosil-(1  $\longrightarrow$  4)- $\alpha$ -D-glicopiranosose, (maltose);

C- ( $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1  $\longrightarrow$  4)- $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1  $\longrightarrow$  2)-  $\beta$ -D-frutofuranose),

( $\alpha$ - maltosyl  $\beta$ -frutofuranose), (erlose).

### 2.1.5.2 Oligossacarídios

Além dos monossacarídios, foram identificados di-, tri- e tetrassacarídios através de cromatografia de partição de alta eficiência e espectrometria de massas, como parte da complexa composição de glicídios no mel. Os principais dissacarídios encontrados foram a maltose e a sacarose. Porém, na literatura foram descritos outros 12 compostos: trealose, celobiose, laminaribiose, maltulose, nigerose, turanose, kojibiose, trealulose, palatinose, gentiobiose, isomaltose, melibiose. A frutofuranosil-(2-1)-frutose (inulobiose) foi identificada em algumas amostras de méis da Espanha (RUIZ-MATUTE et al., 2007), porém mais estudos são necessários para averiguar se este oligossacarídio está presente em outras variedades de méis. Os trissacarídios já identificados no mel são: rafinose, 1-cestose, erlose, melezitose, teanderose, maltotriose, isomaltotriose e panose (DONER, 1977; MATEO; BOSCH-REIG, 1997; DA COSTA LEITE et al., 2000; RUIZ-MATUTE et al., 2007; 2008). Em 2010, Ruiz-Matute e colaboradores caracterizaram tri- e tetrassacarídios em méis através do método de cromatografia gasosa de alta eficiência associada à espectrometria de massas. Os oligossacarídios foram submetidos à derivatização prévia por sililação com hexametildisilazano, formando derivados trimetilsililoxima. 25 trissacarídios foram encontrados, dos quais 12 foram identificados inequivocamente (os principais foram: erlose e panose, com valores de 30-1214 mg 100 g<sup>-1</sup> e 17-863 mg 100g<sup>-1</sup>, respectivamente) e 2 detectados pela primeira vez no mel. Quanto aos tetrassacarídios, do total de 10 compostos identificados, 6 deles eram derivados da sacarose, em concentrações inferiores a 230 mg 100g<sup>-1</sup>. Nesse grupo, somente a nistose foi identificada de maneira inequívoca.

A presença destes compostos deve-se principalmente a reações de *trans*-D-glicosilação. Neste processo, grupos D-glicopiranosila ou D-frutofuranosilasão transferidos para uma molécula receptora que pode ser um mono, oligo- ou polissacarídio. Essas reações seriam catalisadas pelas mesmas enzimas envolvidas em reações de hidrólise deglicídios, no caso do mel a invertase (DA COSTA LEITE et al, 2000). A Figura 5 apresenta um exemplo de reação de transglicosilação.

Alguns estudos têm buscado a utilização do perfil de oligossacarídios na determinação da origem floral e/ou geográfica do mel como alternativa à análise polínica, dada as suas limitações, tais como: baixa ou alta representatividade dos grãos de pólen de algumas plantas, a qual dificulta a determinação do gênero e da espécie. Os di- e trissacarídios são geralmente analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) enquanto outros

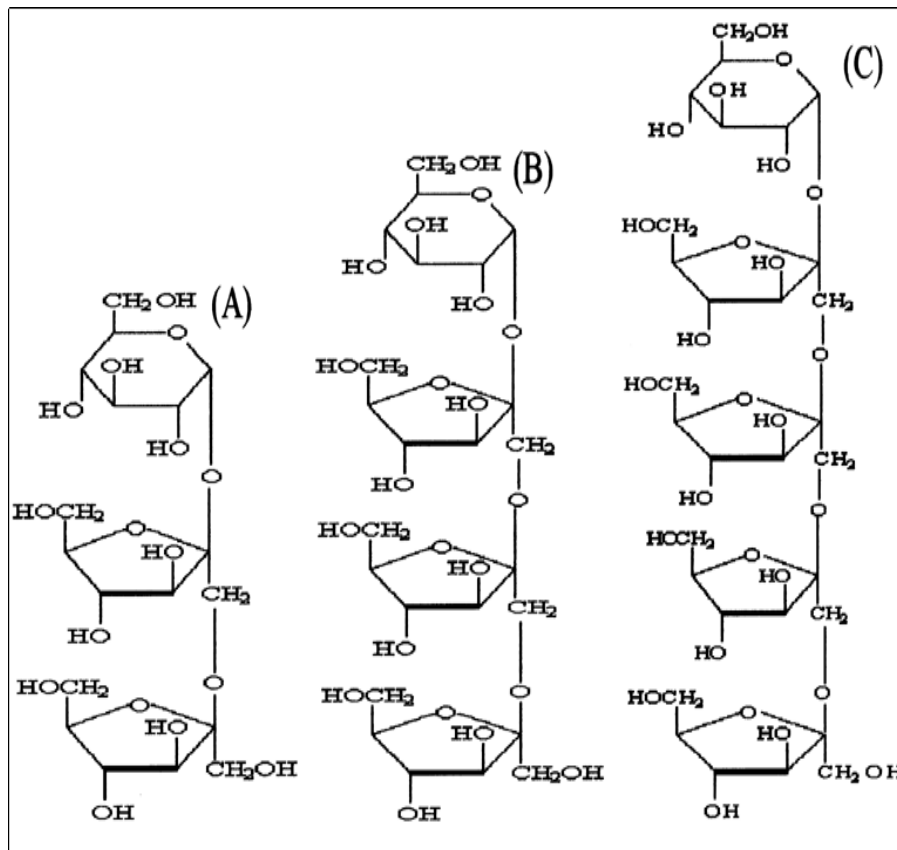
oligossacarídeos são detectados por cromatografia gasosa (CG). A análise estatística multivariada tem sido aplicada para investigar se o perfil destes compostos pode realmente ser útil como marcadores de identificação (SWALLOW; LOW, 1990; GOODALL et al., 1995; COTTE et al., 2004; NOZAL et al., 2005; DE LA FUENTE et al., 2007, 2011; RUIZ-MATUTE, 2013; CONSONNI et al., 2013). O teor de maltose juntamente com o de outros oligossacarídeos também foi capaz de classificar o mel quanto à origem geográfica (SENYUVA et al., 2009; OZBALCI et al., 2013). Portanto, o perfil de oligossacarídeos é uma ferramenta complementar para tipificar tanto a origem botânica como também a origem geográfica de méis monoflorais. Os oligossacarídeos como a nigerose, a turanose, e a maltotriose foram apontados como os principais glicídios com potencial para discriminar amostras de méis monoflorais do Brasil (DA COSTA LEITE et al., 2000). Também foi proposto neste estudo que este tipo de caracterização poderia ser útil inclusive para os consumidores que estivessem interessados em consumir apenas méis de regiões com legislações mais rigorosas em relação à utilização de agrotóxicos bem como ao cultivo de plantas transgênicas. Entretanto, os resultados não foram conclusivos, já que nesse trabalho não foi usado tratamento estatístico apropriado que pudesse discriminar as amostras pelo perfil de oligossacarídeos. Os resultados obtidos com méis estrangeiros foram mais abrangentes. Nozal e colaboradores (2005), usando análise de componentes principais, conseguiram classificar méis de diferentes origens botânicas, com mais de 90 % de acurácia. Os oligossacarídeos analisados com maior potencial discriminante foram: erlose, nigerose, trealose, melezitose, isomaltose e panose. Em estudo mais recente, ao analisar-se amostras de méis espanhóis de 6 origens botânicas diferentes, constatou-se que a sacarose seria característica de méis do gênero *Citrus*; a rafinose e a 1-cestose do mel de urze (*Calluna vulgaris* L.); a teanderose e a panose do mel de alecrim (*Rosmarinus officinalis*); e a 6-cestose de mel de rosas (*Rosaceae*) (DE LA FUENTE et al., 2011). Nos méis espanhóis de urze foram quantificados 3,9 g de melezitose em cada 100 g amostra, apontando para uma possível contaminação com melato (*Quercus* spp.), já que este trissacarídeo não é relevante em méis florais, mas é típico do mel de melato (DONER, 1977; MATEO; BOSCH-REIG, 1997; BOGDANOV; BAUMANN, 1988; DA COSTA LEITE et al., 2000).

Na Tabela 6 é mostrada a distribuição quantitativa dos glicídios em méis monoflorais. Como pode ser observado, os estudos que analisam o perfil de oligossacarídeos no mel são escassos na literatura. São necessárias análises subsequentes destes glicídios em méis monoflorais, uma vez que há evidências cada vez mais consistentes de que esses componentes

sejam parâmetros importantes para a classificação geográfica e botânica do mel, podendo, portanto, futuramente integrar critérios oficiais usados na determinação da qualidade do mel. Além disso, o consumo de mel apresenta uma série de efeitos fisiológicos relacionados à composição glicídica conforme descrito por diferentes autores (BOGDANOV et al., 2008; MUNSTEDT et al., 2011; EREJWUA et al., 2012a, 2012b, 2012c). Segundo esses trabalhos, o efeito antidiabético pode ser atribuído à presença de frutose, a qual retarda ambos o esvaziamento gástrico e a absorção de glicose e, portanto, prolonga a saciedade, além de reduzir o índice glicêmico. Esses efeitos também podem estar relacionados à presença de oligossacarídeos que representam de 5 % a 10 % dos sólidos totais do mel. Além disso, essa matriz apresenta grande variedade de fruto-oligossacarídeos, os quais parecem induzir um efeito prebiótico, visto que há um recrudescimento de alguns gêneros na microbiota intestinal, tais quais: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*. Os autores dessa revisão formulam a hipótese que a complexidade do perfil de oligossacarídeos no mel poderia ter um efeito benéfico no estímulo da secreção de incretinas [por exemplo: peptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1)], as quais estimulam a secreção de insulina. Entretanto, essa é uma hipótese meramente especulativa que carece de trabalhos investigativos.

Devido ao custo relativamente alto do mel, têm sido realizadas adições de produtos glicídicos de baixo custo, tais como: melaço, caramelo; xaropes de açúcar de milho, açúcar da cana de açúcar e da beterraba, os quais são invertidos por ácidos e enzimas, bem como xaropes de milho ou seus derivados ricos em frutose obtidos por isomerização. Há um crescente interesse em se encontrar um método simples e econômico para a detecção de fraudes e adulterações no mel. A adição de xarope de milho com elevado teor de frutose tem gerado preocupação, pois é difícil de ser detectada pelos métodos analíticos convencionais (RUIZ-MATUTE et al., 2007, 2013; CHEN et al., 2011). Estudos têm buscado detectar este tipo de adulteração através da análise de oligossacarídeos, pois geralmente estes xaropes contêm vestígios de fruto-oligossacarídeos, de maior massa molecular, que não são característicos do mel. Contudo, esse método não foi validado para esta finalidade devido às alterações constantes na composição dos xaropes utilizados, independente do tipo, tornando difícil a detecção da adulteração. Para tal, a determinação dos glicídios deve ser constantemente atualizada para de modo a tornar possível a detecção da composição real dos fruto-oligossacarídeos dos xaropes de milho e assim confrontar com o perfil encontrado nas amostras do mel genuíno. Além disso, a própria composição do mel é bastante variável conforme a origem botânica e/ou geográfica (BOGDANOV et al., 2002; RUIZ-MATUTE et

al., 2007; RUIZ-MATUTE et al., 2013). Na Figura 6 é mostrado um perfil de fruto-oligossacarídios no mel.



**Figura 6.** Estrutura química dos principais fruto-oligossacarídeos: (A) 1-kestose, (B) nistose e (C) fructofuranosilnistose.



**Tabela 6.** Glicídios em méis monoflorais.

Origem botânica	GLI	FRU	FRU/ GLI	SAC	MAL	TUR	NIG	MEB	Referências
<i>Rosmarinus officinalis</i> L. <sup>a</sup>	31,20 ±0,44	36,20±0,44	1,17±0,03	1,60±0,50	3,90±0,17	-	-	-	1
<i>Citrus</i> spp. <sup>b</sup>	30,40±0,61	36,80±0,54	1,20±0,02	4,24±0,85	3,45±0,24	-	-	-	
<i>Lavandula latifolia</i> Med. <sup>c</sup>	30,50±0,73	37,40±0,23	1,23±0,02	0,88±0,33	4,40±0,17	-	-	-	
<i>Helianthus annuus</i> L. <sup>d</sup>	35,20±0,39	39,40±0,19	1,12±0,01	0,07±0,01	2,74±0,08	-	-	-	
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	31,40±0,40	38,70±0,17	1,23±0,02	0,29±0,82	4,81±0,21	-	-	-	
<b>Dehnh<sup>e</sup></b>									
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill. <sup>e</sup>									
<i>Ericaceae</i> mainly <i>Erica</i> spp. <sup>g</sup>	29,50±0,43	37,40±0,32	1,27±0,02	0,06±0,02	3,60±0,15	-	-	-	
<i>Eucalyptus</i> spp. <sup>e</sup>	32,5±3,04	42,4±2,6	1,30±0,16	0,39±0,74	2,51±1,48	1,70±1,02	1,67±0,92	0,09±0,10	2
<i>Croton</i> sp. <sup>f</sup>	32,30±0,7	40,0±1,1	1,24±0,06	0,4±0,2	4,2±0,5	5,1±0,2	-	0,5±0,3	3
<i>Robinia pseudoacacia</i> <sup>h</sup>	26,30±13,00	43,89±12,90	1,70±0,10	2,00±2,00	2,60±0,70	2,90±0,60	-	0,10 ± 0,10	4
<i>Castanea</i> sp. <sup>i</sup>	26,52±20,70	40,72±22,80	1,50±0,10	0,20±0,20	1,50±0,50	2,80±0,80	-	0,30 ± 0,30	
<i>Brassica</i> sp. <sup>j</sup>	39,64±22,90	37,92±15,20	1,00±0,10	0,10±0,10	0,30±2,60	1,30±0,60	-	ND	
<i>Lavandula latifolia</i> Med. <sup>c</sup>	32,33±13,10	38,46±13,00	1,20±0,10	4,70±2,80	2,60±0,60	1,80±0,50	-	0,10 ± 0,00	
<i>Tilia</i> sp. <sup>l</sup>	32,67±19,00	38,16±23,60	1,20±0,10	0,50±0,60	1,90±0,40	3,20±1,10	-	0,30 ± 0,10	
<i>Helianthus annuus</i> L. <sup>d</sup>	37,90±18,60	39,98±22,60	1,10±0,10	1,10±0,10	1,10±0,40	0,90±0,30	-	ND	
<i>Citrus</i> spp. <sup>b</sup>	26,18*	33,12*	1,27*	1,80*	1,95*	2,87*	18,00*	0,20*	5

(1) Mateo e Bosch-Reig (1998); (2) Da Costa et al. (2000); (3) Matos et al. (2002); (4) Cotte et al. (2004); (5) Ruiz-Matute et al. (2008); Nome popular dos tipos de mel: (a) Alecrim (b) Citrus (c) Lavanda (d) Girassol (e) Eucalipto (f) Morrão de candeia (g) Urze (h) Acácia (i) Castanha (j) Rape (l) Tília; SAC = sacarose; MAL = maltose; TUR = turanose; NIG = nigerose; MEB = melebiose; FRU/GLI = razão frutose / glicose; (-) = não analisado; ND = não detectado; \*não há informação sobre o DP; Todos os resultados estão expressos em g 100g<sup>-1</sup> de mel

**Tabela 6.** Glicídios em méis monoflorais (continuação).

Origem botânica	ISO	ERL	RAF	PAN	MEL	MTR	Referências
<i>Rosmarinus officinalis</i> L. <sup>a</sup>	0,97±0,08	-	-	-	-	-	1
<i>Citrus</i> spp. <sup>b</sup>	0,47±0,07	-	-	-	-	-	
<i>Lavandula latifolia</i> Med. <sup>c</sup>	1,09±0,11	-	-	-	-	-	
<i>Helianthus annuus</i> L. <sup>d</sup>	0,31±0,04	-	-	-	-	-	
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh <sup>e</sup>	0,79±0,09	-	-	-	-	-	
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill. <sup>e</sup>				-			
<i>Ericaceae</i> mainly <i>Erica</i> spp. <sup>g</sup>	1,00±0,07	-	-	-	-	-	
<i>Eucalyptus</i> spp. <sup>e</sup>	0,53±0,64	-	0,07±0,06	0,02±0,02	0,18±0,15	0,35±0,40	2
<i>Croton</i> sp. <sup>f</sup>	-	0,2±0,1	0,3±0,1	1,0±0,5	-	0,22±0,01	3
<i>Robinia pseudoacacia</i> <sup>h</sup>	0,90 ± 0,30	1,90±1,20	0,00±0,10	0,20 ± 0,10	0,10 ± 0,10	0,40 ± 0,20	4
<i>Castanea</i> sp. <sup>i</sup>	1,80 ± 0,80	0,20±0,20	0,00±0,10	0,20 ± 0,10	0,30 ± 0,30	0,20 ± 0,10	
<i>Brassica</i> sp. <sup>j</sup>	0,40 ± 0,20	ND	ND	0,1 ± 0,20	ND	ND	
<i>Lavandula latifolia</i> Med. <sup>c</sup>	0,5 ± 0,20	1,40±0,60	0,10±0,00	0,10 ± 0,10	0,10 ± 0,00	0,20 ± 0,10	
<i>Tilia</i> sp. <sup>l</sup>	1,70 ± 0,80	1,00±0,60	-	0,40 ± 0,20	0,30 ± 0,10	0,50 ± 0,20	
<i>Helianthus annuus</i> L. <sup>d</sup>	0,30 ± 0,10	ND	ND	0,10 ± 0,10	ND	0,10 ± 0,00	
<i>Citrus</i> spp. <sup>b</sup>	16,20*	0,50*	0,01*	2,50*	0,90*	1,50*	5

(1) Mateo e Bosch-Reig (1998); (2) Da Costa et al. (2000); (3) Matos et al. (2002); (4) Cotte et al. (2004); (5) Ruiz-Matute et al. (2008); Nome popular dos tipos de mel: (a) Alecrim (b) Citrus (c) Lavanda (d) Girassol (e) Eucalipto (f) Morrão de candeia (g) Urze (h) Acácia (i) Castanha (j) Rape (l) Tília; ISO = isomaltose; ERL = erlose; RAF = rafinose; PAN = panose; MEL = melezitose; MTR = maltotriose; FRU/GLI = razão frutose / glicose; (-) = não analisado; ND = não detectado; \*não há informação sobre o DP; Todos os resultados estão expressos em g 100 g<sup>-1</sup> de mel.

## 2.2. COMPOSTOS VOLÁTEIS

O perfil de aroma de um produto alimentar é importante tanto para aspectos de qualidade organoléptica quanto de determinação de sua autenticidade (CARERI et al., 1994). A variedade de compostos voláteis e os seus respectivos teores dosados em alimentos são o que define a chamada “impressão digital do produto”. Tradicionalmente, a origem botânica do mel é determinada por análise microscópica do pólen (análise polínica), uma técnica conhecida como melissopalínológica. No entanto, esta análise possui custo elevado, é demorada e depende fortemente das qualificações e julgamento do analista (MANYI-LOH et al., 2011). Portanto, existe uma tendência para substituir a análise polínica por marcadores analíticos através da discriminação físico-química do mel. Sendo assim, pesquisas foram realizadas priorizando o estudo do perfil de compostos voláteis do mel, tendo sido identificados mais de 600 compostos voláteis em diferentes famílias químicas, originados a partir de várias vias biossintéticas. Geralmente, os compostos voláteis podem ser derivados a partir da fonte da planta ou néctar, a partir da transformação de compostos da planta pelo metabolismo de abelha, de aquecimento ou de manuseamento durante o processamento e armazenamento de mel, ou de contaminação microbiana ou ambiental. As classes químicas em que os compostos voláteis mel pertence incluem: hidrocarboneto, aldeído, álcool, cetona, ácido, éster, benzeno e seus derivados, furano e pirano, norisoprenoides, terpenos e seus derivados, e compostos cíclicos (BARRA et al., 2010). No entanto, apenas os compostos derivados da planta e seus metabólitos (terpenos, norisoprenoides, benzenos e seus derivados) devem ser utilizados para discriminar a origem floral do mel. (MANYI-LOH et al., 2011).

Além dos compostos voláteis no mel serem uma ferramenta útil para a caracterização da sua origem botânica (OVERTON; MANURA, 1994; ANKLAM et al., 1998; ANKLAM; RADOVIC, 2001; RADOVIC et al., 2001), é possível que sejam responsáveis por uma parte considerável da ação terapêutica do mel. Derivados benzenos, por exemplo, são compostos heterocíclicos que servem como precursores essenciais para a síntese de produtos naturais e fármacos dotados com ação antiviral, antibacteriana, antifúngica, antitumorais e efeitos de modulação da resposta imunológica. Já compostos hidrocarbonetos aromáticos presentes no mel podem servir como marcadores de poluição ambiental (MANYI-LOH et al., 2011).

Dessa forma, diversas técnicas estão sendo empregadas para identificação de compostos voláteis de aroma no mel e determinação da sua “impressão digital”. No entanto, a composição de voláteis no mel exhibe forte variabilidade de acordo com os sistemas de extração, uma vez que a volatilidade e a polaridade de cada composto afeta significativamente

a percentagem de recuperação. Alguns destes métodos, por exemplo, hidrodestilação (HD), a extração líquido-líquido (LLE), extração de destilação a vapor simultânea (SDE) ou *Likens-Nickerson* destilação simultânea extração (LNSDE) e micro-extração simultânea de vapor destilação solvente (MSDE) utilizam calor (MANYI-LOH et al., 2011). A aplicação de calor inerente a estes métodos pode promover a perda de compostos termolábeis bem como gerar artefatos através da reação de *Maillard*. Um estudo comparativo do efeito da temperatura sobre os parâmetros físico-químicos, a composição volátil e qualidade sensorial de mel de urze armazenado durante um ano foi realizado, verificando-se aumento significativo nos níveis de 2- furanometanol, furaneol, 2-metil-furano-ácido carboxílico, maltol e 2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi -6-metil-4(H)-piran-4-ona (DDMP) quando armazenados a 40°C (CASTRO – VAZQUEZ et al., 2012).

Além disso, vale considerar que devido a baixa concentração de voláteis, é necessário remover os açúcares que são os componentes principais no mel antes de isolá-los. A extração com solventes começou a ser amplamente utilizada para a caracterização do mel, evitando a perda de compostos termolábeis e simplificando o processo de análise. No entanto, a extração direta com solventes pode solubilizar compostos não voláteis e contaminar a porta de injeção de CG. Também alguns analitos podem ser mascarados pelo solvente prejudicando a sua detecção. O método de extração por extração em fase sólida (EFS) é uma técnica alternativa para o isolamento de compostos voláteis sem a utilização de calor, e combina a utilização de solvente e um polímero poroso. Este método de extração por coluna foi utilizado previamente (SHIMODA; WU; OSAJIMA, 1996). A amostra de mel foi dissolvida numa solução de água deionizada e ciclo-hexanol e passado através de uma coluna empacotada com esferas de polímero poroso (Porapak Q). Os constituintes adsorvidos foram então eluídos com éter dietílico, concentrados e analisados por GC/EM. Este modelo foi posteriormente adaptado para análise de méis brasileiros, sendo eles: de caju (*Anarcadium occidentale*) e marmeleiro (*Croton* spp.) (MOREIRA et al, 2002). A técnica de microextração em fase sólida (SPME) é bastante promissora e apresenta as seguintes vantagens: 1- alta reprodutibilidade e sensibilidade; 2- simples e rápido e 3- não apresenta as etapas complexas de pré-enriquecimento contidas em outros métodos. Os resultados são dependentes do tipo de fibra e das condições de extração (DE LA FUENTE et al., 2005; ALISSANDRAKIS et al., 2007). Para acessar informações mais detalhadas sobre SPME, existe uma revisão crítica bastante interessante sobre o assunto publicada na literatura (CUEVAS-GLORY et al., 2007). Uma nova técnica livre de solvente é a extração em fase sólida dinâmica (HS-SPDE), que utiliza

uma agulha oca com um revestimento interno de um polímero. Os compostos voláteis concentram-se na película absorvente (polímero), passando o gás através do dispositivo de aspiração repetida com movimentos de ejeção do êmbolo da seringa. Comparado com HS-SPME, o sistema HS-SPDE é mecanicamente mais resistente e tem a vantagem potencial de aumentar a quantidade de absorção de polímero, bem como a área de superfície disponível para a absorção de compostos voláteis. No entanto, uma vez que este método é relativamente novo, mais investigações são necessárias para entender os efeitos de parâmetros, tais como temperatura, tipo de fibra, agitação e número de ciclos de aspiração sobre a recuperação dos analitos (CUERVAS-GLORY et al., 2007). Embora a extração dos compostos voláteis da fração *headspace* do mel seja promissora na determinação do perfil volátil, foi verificado na literatura que após 3 meses de armazenamento, a quantidade de voláteis no *headspace* diminuiu. Portanto, estudos devem considerar esta perda na seleção das amostras para evitar vieses e/ou subestimação dos teores destes compostos. (KASKONIENE et al., 2008).

Outra técnica que vem sendo aplicada na extração de compostos voláteis é a utilização de ultrassom de banho-maria como meio de extração compostos voláteis e semivoláteis do mel com potencial promissor, pois não necessita de calor, e assim, não gera artefatos (como derivados do furano ou hotrienol). Além disso, o processo inteiro que foi desenvolvido é bastante rápido, e acessível em relação ao equipamento. Além disso, esta técnica permite a extração de compostos de peso molecular superior a 220 que podem possivelmente contribuir para a determinação da origem do mel. Contudo esta técnica ainda requer aperfeiçoamento (ALISSANDRAKIS et al., 2003). A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) combina alta sensibilidade e eficiência de separação, sendo empregada como técnica mais usual para determinação do perfil de aroma. A associação de narizes eletrônicos à espectrometria de massas foi testada em méis de diferentes origens geográficas e botânicas agregando a identificação dos compostos voláteis de impacto para o aroma (SORIA; MARTINEZ-CASTRO; SANZ, 2003).

A análise de compostos voláteis no mel pode então ser realizada para a determinação dos compostos de aroma de impacto ou marcadores de origem botânica. Vários autores têm usado o perfil de compostos voláteis para tipificar a origem floral ou mesmo apontar os odorantes potentes de cada mel (ALISSANDRAKIS et al., 2005, 2007; BIACHI et al., 2011, KAKONIENE et al., 2008). Na Tabela 7, podemos observar os compostos de aroma de maior impacto em méis monoflorais já identificados, em amostras de diferentes regiões geográficas. A fração volátil do mel de tomilho grego foi investigada por meio de técnica de ultrassom

assistida seguida por análise de CG-EM. Compostos fenólicos foram os mais abundantes, seguidos ácidos graxos de cadeia curta. No total, 14 compostos são propostos como potentes marcadores botânicos para mel de tomilho. Entre eles, 3-hidroxi-4-fenil-2-butanona e 3-hidroxi-1-fenil-2-butanona foram os mais importantes, já que suas médias de concentração foram maiores do que 35 mg kg<sup>-1</sup> de mel (ALISSANDRAKIS et al., 2009). Em outro estudo, foram identificados 15 compostos como marcadores potentes para o mel de algodão, entre os quais: cinamaldeído (0,44 %), álcool cinâmico (1,79 %), ácido cinâmico (1,13 %) e ácido (Z)-p-metoxi-cinâmico (0,48 %), benzenopropanol (0,5 %), álcool homovanílico (0,6 %), coniferaldeído (0,47 %), ácido p-cumárico (1,77 %), ácido ferúlico (0,51 %) (ALISSANDRAKIS et al., 2005).

Em um extrato analisado de mel de citrus proveniente da Grécia foram detectados, através de análise de CG/EM, *lilac* aldeídos como os compostos voláteis predominantes. Esses compostos podem ser considerados os marcadores mais poderosos para o mel de citrus. Adicionalmente, dihidroxi óxidos de linalol, *lavender* lactona, *dill* éter, os quatro isômeros do 1-p-menthen-9-al, antranilato de metila e nerolidol também foram detectados. Os quatro isômeros de 1-p-menthen-9-al, antranilato de metila e nerolidol poderia ajudar a discriminação botânica, Entre os compostos identificados, cinco são relatados como componentes de mel primeira vez: isômeros do hidróxi óxidos de linalol, 1,8-mentadien-4-ol, limonen-1-ole metilantranilato metila (ALISSANDRAKIS et al., 2007). Em méis de cardo da Itália, a sua impressão digital foi atribuída a 16 compostos: nonanal, furfural, decanal, 3,6-dimetil-hexahidrobenzofurano, benzaldeído, linalol, lilac aldeído (isômero IV), hotrienol, fenilacetaldeído, 4-oxoisoforona, álcool benzílico, 2-feniletanol, ácidos octanóico e nonanóico e antranilato de metila (BIACHI et al., 2011). Na Europa, tem sido cada vez mais utilizada a técnica de espectroscopia de RMN para identificar biomarcadores de origem do mel. A análise da composição volátil de méis europeus da região de Córsega mostrou que o ácido quinurênico é um biomarcador do mel de castanha doce. Já os compostos alfa-isoforona e o ácido 2,5-dihidroxifenil-acético foram confirmados como marcadores do mel de morango (DONASRSKI et al., 2010). Os compostos voláteis: 2-fenil-etanol (38,3-58,4 %), e óxidos cis- e trans-linalol, benzaldeído e álcool benzílico, foram extraídos da fração *headspace* por SPME-CG/EM do mel de *Amorphafruticosa*. Por outro lado, os principais compostos extraídos com solvente por ultrassom foram: 2-fenil-etanol (10,5-16,8 %) e seringato de metila (5,8-8,2 %), com uma pequena percentagem de linalol, derivados de benzeno e de ácido benzóico, hidrocarbonetos alifáticos e alcoóis, derivados do furano e outros (JERKOVI et al.,

2009). Amostras de méis monoflorais de *rapeflower*, trevo, cominho e duas amostras poliflorais foram analisados, sendo encontrado um total de 93 compostos, sendo 32 no *headspace*. Os compostos encontrados pertencem a diferentes classes químicas, tais como: alcoóis, cetonas, aldeídos, ácidos, terpenos, hidrocarbonetos, benzeno e derivados do furano. Os compostos benzaldeído e benzenoacetaldéido foram encontrados em todas as amostras analisadas; em 14 das 15 amostras, foram encontrados sulfureto de dimetila, pentanonitrilo e benzilnitrilo; em 13 amostras, foram verificados os ácidos isobutano, octanóico e nonanóico; furfural, linalol e nonanal em 12 amostras; octanal, *lilac* aldeído C, hotrienol; decanal em 11 amostras e, finalmente, 2- metilbutanonitrila em 10 amostras de mel. Após 3 meses de armazenamento, verificou-se variação na composição volátil da fração *headspace*, com redução no teor de compostos (KAKONIENE et al, 2008). Em adição ao estudo dos compostos biomarcadores, a análise dos odorantes potentes é uma vertente muito importante para a elucidação dessa matriz tão complexa que é o mel. Ruisinger and Schieberle (2012) realizaram extração por evaporação de solventes assistida (SAFE) e subsequente análise do aroma por diluição do extrato (AEDA) em amostras de mel *derapeflower*. Verificaram que 28 áreas de odor ativo poderiam ser detectadas através de um fator de diluição (FD), cuja faixa foi de 4 a 2048. Os maiores FD foram encontrados com (E)- $\beta$ -damascenona (cozido de maçã), ácido fenilacético (mel), 4- metoxibenzaldeído (anis), o ácido 3-fenilpropanóico (florido, cera), e 2-metoxi-4-vinilfenol (de cravo). Vinte e três odores foram quantificados através da aplicação de isótopos estáveis. A diluição e os valores de atividade de odor (VAO) foram calculados com base em limiares de odor fixados em uma solução aquosa de frutose e glucose. Os maiores VAOs foram calculados para (E)- $\beta$ -damascenona, ácido 3-fenilpropanóico, ácido fenilacético, trissulfureto dimetila e fenilacetaldéido. Uma mistura modelo contendo os 12 odorantes, mostrando um VAO  $\geq 1$  nas mesmas concentrações, como ocorreu no mel de *estupro* (sic), foi capaz de imitar a impressão de aroma do mel de origem. A caracterização dos odorantes chave na *rapeflowers* sugeriu que o ácidos 3-fenilpropanóico e fenilacético podem ser transferidos para o mel através das abelhas. Para melhor conhecimento dos marcadores botânicos e dos odorantes de diferentes méis monoflorais, há uma revisão crítica bastante interessante sobre o assunto (MANYI-LOH et al., 2011).

**Tabela 7.** Compostos de aroma de maior impacto em méis monoflorais.

<b>Tipo de mel</b>	<b>Origem botânica</b>	<b>Origem geográfica</b>	<b>Odorantes potentes</b>	<b>Referência</b>
Mel de <i>rape</i>	<i>Brassica</i> sp.	Alemanha	(E) - $\beta$ – damascenona ácido 3 - fenilpropanóico ácido fenilacético dimetil trissulfureto fenilacetaldeído	Ruisinger e Schieberle (2012)
Mel de trigo mourisco	<i>Fagopyrum</i> sp.	EUA	3-metilbutanal, 3-hidroxi-4,5-dimetil-2(5H) furanona (E)- $\beta$ -damascenona	Zhou, et al. (2002)
Mel de cambará	<i>Gochnatia Velutina</i>	Brasil	Benzaldeído ácido 2,3-metilbutanóico benzoni-trila	Moreira e De Maria (2005)
Mel de marmeleiro	<i>Rosacea</i> esp.	Brasil	Ácido isovalérico $\gamma$ – decalactona eugenol ácido benzóico ácido vanílico	Moreira et al. (2002).
Mel de morrão-de-candeia	<i>Croton</i> sp.	Brasil	2-feniletanol 2-butil-1-octanol benzoni-trila	Matos et al. (2002)
Mel de assa-peixe	<i>Vernonia</i> sp.	Brasil	2-feniletanol 2,3-butanodiona	Matos et al. (2002)



### 2.3 MEL DE ANGICO

Entre os méis tropicais incomuns, temos o angico (*Anadenanthera cf. colubrina*). Ele é de cor clara com um sabor e aroma suaves. Embora a planta se adapte rapidamente as condições ambientais adversas, ela não é facilmente encontrada, provavelmente devido à sua grande utilização na produção de carvão e na construção rural. Um passo importante para a conservação da espécie e o manejo florestal sustentável seria estimular a apicultura. Uma maneira de fazer o mel angico economicamente atraente é conhecer sua composição química. Ao longo dos últimos 25 anos alguns autores relataram a composição química de méis tropicais brasileiros de diferentes biomas, entre estes: *Mimosa verrucosa* (jurema branca), *Mimosa caesalpiniaefolia* (sansão-do-campo) e *Anacardium occidentale* (caju) na caatinga (MOREIRA et al., 2002; SODRÉ et al., 2011), *Piptadenia moniliformis* (catanduba), *Croton* sp. (morrão de candeia) e *Gochnatia velutina* (cambará), em Mata Atlântica (MOREIRA; DE MARIA, 2005; SANT'ANA et al., 2011), *Vernonia* sp. (Assa-peixe) e *Schinus* sp. (Aroeira) em área de cerrado (COSTA et al., 1999; DA COSTA LEITE et al., 2000; MATOS et al., 2002; RIBEIRO; MOREIRA; DE MARIA, 2008). De acordo com estes estudos, alguns parâmetros químicos foram descritos, bem como suas alterações durante o armazenamento de mel em condições tropicais (MOREIRA et al., 2007; 2010). Os pesquisadores também têm focado seus esforços não só para determinar a composição química, mas também usá-la para tipificar a origem geográfica e botânica do mel (MATEO; BOSCH-REIG, 1997; KROPF et al., 2010; KASKONIENÉ; VENSKUTONIS, 2008; SANT'ANA et al., 2011). A prática da apicultura é uma potente ação de conservação, bem como uma opção de desenvolvimento que pode melhorar as condições de vida das pessoas. Neste contexto, a condução de estudos sobre a composição química de méis monoflorais exóticos de espécies encontradas em biomas ameaçados certamente ajudará a manter as árvores em pé. O presente estudo teve como foco principal analisar alguns parâmetros químicos de amostras de mel de angico genuínos e usar alguns parâmetros para auxiliar na classificação botânica do mel.

### 3. OBJETIVOS GERAIS

Determinar as frações não volátil e volátil do mel de angico a fim de se obter um maior conhecimento da composição química desta variedade de mel, bem como usar esses parâmetros para a classificação botânica do mel.

#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o teor de umidade, acidez total, prolina livre e a atividade diastásica no mel, através de métodos de refratometria, titulometria, potenciometria e espectrofotometria;
- Quantificar os teores de HMF, monossacarídeos e oligossacarídeos por CLAE;
- Identificar e semiquantificar a fração volátil, bem como indicar possíveis odorantes, através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, a detector de ionização em chamas e a um aparato artesanal para percepção odorífera (CG-EM, CG-DIC e CG-SNIFFING);
- Comparar o perfil de alguns parâmetros da fração não volátil do mel de angico com os de méis de morrão de candeia e de marmeleiro publicados anteriormente pelo grupo, com a finalidade de usar esses parâmetros para identificar a origem botânica.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 AMOSTRAS E REAGENTES

Seis amostras de mel de angico (*Anadenanthera cf. colubrina*), colhidas em áreas remanescentes da Mata Atlântica da região sul do país, foram obtidas diretamente de apicultores confiáveis e posteriormente estocadas em embalagens plásticas à -18°C sob atmosfera de nitrogênio. As amostras foram analisadas no mesmo ano da coleta. Para a realização dos ensaios experimentais, as amostras foram aquecidas a 30°C e homogeneizadas com leve agitação por 3 min. A análise polínica das amostras foi realizada previamente no Laboratório de Palinologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, seguindo método descrito na literatura (LOUVEAUX; MAURIZIO; VORWOHL, 1978).

Os reagentes, metanol e acetonitrila de grau CLAE foram obtidos da Fluka (Suíça), enquanto a acetona e a prolina da Merck (Alemanha). Os padrões de glicídios foram provenientes da Sigma (EUA), tais quais: glicose, frutose; dissacarídeos: sacarose [ $\alpha$ -D-glicopiranosil- $\beta$ -D-frutofuranose], turanose [O- $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)-D-frutofuranose], maltose [O- $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glicopiranosil], nigerose [O- $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)-D-glicopiranosil], melibiose [O- $\alpha$ -D-galatopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-D-glicopiranosil], isomaltose [O- $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-D-glicopiranosil], trealose [ $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-glicopiranosil] e trissacarídeos: maltotriose [O- $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glicopiranosil], melezitose [O- $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 1)- $\beta$ -D-frutofuranosil-(2 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-glicopiranosil], panose [O- $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\alpha$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glicopiranosil], rafinose [O- $\alpha$ -D-galatopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\alpha$ -D-glicopiranosil- $\beta$ -D-frutofuranose]. Já os padrões dos compostos voláteis (óxido de trans-linalol, 2-etil-1-hexanol, hexadecano, ácido 2-metil-butanóico, feniletanol, heneicosano, tetracosano, ácido benzoico, ácido fenil-acético, hexacosano, ácido fenilpropanodióico, ácido hexadecanóico) foram posteriormente adquiridos à medida que os compostos foram sendo identificados por CG-EM. O HMF foi da Aldrich (USA). O Porapak Q (50-80 mesh) foi obtido da Milipore Corp. (EUA). Todos os outros reagentes foram de grau analítico.

## 4.2 FRAÇÃO NÃO VOLÁTIL

### 4.2.1 Umidade

A umidade foi determinada por refratometria, conforme método descrito pela AOAC (1990), utilizando-se um refratômetro de *Abbé*. O teor de água foi obtido em percentual através da Tabela de *Chataway*.

### 4.2.2 Acidez

As análises de acidez foram realizadas com base no método titulométrico conforme AOAC (1990). Considerou-se acidez total, o somatório da acidez livre e da acidez lactônica. O teor de acidez livre foi obtido através de titulação de 1 g de amostra com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,01N até a solução atingir um pH de 8,5. Para a determinação da acidez lactônica, pipetou-se 10mL de hidróxido de sódio na solução de amostra com pH igual a 8,5, e posteriormente efetuou-se a titulação com ácido clorídrico (HCl) a 0,01N.

### 4.2.3 pH

O pH foi determinado através de potenciometria, utilizando-se potenciômetro digital, com base na AOAC (1990), a partir de 10mL de amostra de mel diluída em 75 mL de água destilada e deionizada.

### 4.2.4 Prolina livre

A quantificação de prolina livre na amostra de mel foi determinada através de espectrofotometria ( $\lambda = 510 \text{ nm}$ ) via reação com ninidrina, utilizando-se o espectrofotômetro Bel Photonics 2000UV (Brasil), segundo AOAC (1990). Os resultados foram determinados em mg de prolina  $\text{kg}^{-1}$  de amostra.

#### 4.2.5 Atividade diastásica

A atividade diastásica foi obtida através de espectrofotometria, utilizando-se o espectrofotômetro Bel Photonics 2000UV (Brasil), com base no método da AOAC (1990). Os resultados serão determinados em graus °G, obtidos a partir do volume de solução de amido a 1% hidrolisado pela enzima amilase presente em 1g de mel, por 1h, a uma temperatura de 40°C. O reagente de *Lugol* (solução aquosa de iodeto de potássio (KI) a 2 % + iodo (I<sub>2</sub>) a 1 %) foi usado para reação com o amido. Os tubos de ensaio com extratos da mesma cor do reagente de *Lugol* (amarelo claro) após o período de incubação foram considerados sem amido ou dextrina e, portanto, a hidrólise do amido foi completa.

#### 4.2.6 HMF

A presença de HMF na amostra foi determinada com base no método descrito por LEE; ROUSEFF; NAGY (1986) adaptado por COSTA et al. (1999). A amostra diluída a 20 % foi clarificada a partir da adição de 0,5 mL de solução de *Carrez 1* (21,9 g de acetato de zinco cristalizado com 3 mL de ácido acético glacial em água bidestilada até o volume de 100 mL) e 0,5 mL de solução de *Carrez 2* (10,6 g ferrocianeto de potássio em água bidestilada até o volume de 100 mL). Posteriormente, a solução obtida foi centrifugada a 2000 x g durante 5min e 1mL do sobrenadante foi retirado e acondicionado em cartucho Sep-Pak C-18 (marca Waters, USA), previamente condicionado com 2 mL de metanol e 5 mL de água destilada). Em seguida, o cartucho foi lavado com 0,5 mL de hexano e o HMF foi eluído duas vezes com 3 mL de acetato de etila e o eluato foi seco com sulfato de sódioanidro. Por fim, uma alíquota de 20 µL de amostra ou padrão de HMF foi analisada por CLAE, utilizando equipamento marca Shimadzu (Japão), através de coluna Spherisorb ODS II C-18 (250 x 4 mm, i.d.) da marca Supelco (EUA), com fase móvel de acetonitrila:água (15:85, v/v) a 1,3 mL min<sup>-1</sup>, e detecção do efluente a 280nm. A quantificação foi determinada através da comparação entre a altura do pico da amostra com o padrão de HMF (mantido no escuro). O resultado foi expresso em mg HMF kg<sup>-1</sup> mel.

#### 4.2.7 Glicídios

A determinação de monossacarídeos baseou-se no método descrito por COSTA et al. (1999) e a de oligossacarídeos no método descrito por DA COSTA LEITE et al. (2000). Para monossacarídeos, cada amostra foi diluída a 0,5 % em acetonitrila (1:1, v/v) e posteriormente centrifugada por 5 min em uma centrífuga para *ependorff* (Incibrás, Brasil). Os padrões de glicídios (frutose e glicose) foram dissolvidos em água nas mesmas condições da amostra e concentrados a 2 mg mL<sup>-1</sup>. A análise procedeu-se por CLAE, em equipamento similar ao descrito no tópico anterior, porém a separação dos compostos glicídicos foi realizada em coluna Lichrosphere 5-NH<sub>2</sub> (250 x 4 mm, i.d.) da Merck (Brasil) usando fase móvel de acetonitrila:água (85:15, v/v) a 1,5 mL min<sup>-1</sup> e a detecção foi executada com detector de índice de refração (IR) da Waters (EUA). Para oligossacarídeos, as condições foram as mesmas dos monossacarídeos, exceto que as amostras foram preparadas a 5 % (v/v) a fase móvel foi acetonitrila:água (85:15, v/v) a 1,2 mL min<sup>-1</sup>. Os padrões foram injetados separadamente e tanto a mistura de padrões como a amostra foram adicionadas de cada glicídio individualmente, para confirmação da identidade dos compostos. A quantificação foi obtida por comparação com a altura do pico dos padrões de cada glicídio. Os resultados foram expressos em g % de cada glicídio. Quando o glicídio não foi detectado a concentração foi considerada zero para propostas de cálculo.

### 4.3 FRAÇÃO VOLÁTIL

#### 4.3.1 Isolamento dos compostos voláteis

Os compostos voláteis foram isolados por cromatografia de adsorção, através do método proposto por SHIMODA; WU; OSAJIMA (1996) e modificado por MOREIRA et al. (2002). A extração foi obtida a partir de uma solução aquosa (20 g%, p/v) de 100 ml de amostra de mel, contendo 50 mg de n-pentanol como padrão interno. A solução da amostra foi passada em uma coluna de vidro (0,5 cm d.i. x 18 cm) empacotada com adsorvente Porapak Q<sup>®</sup> (Supelco, USA), previamente condicionada a 225°C por 3 h em N<sub>2</sub>, a um fluxo de 0,9 L min<sup>-1</sup> - 1,0 L min<sup>-1</sup>. Em seguida, a coluna foi invertida e lavada com 100 mL de água bidestilada para remoção de glicídios. A dessorção dos compostos voláteis foi obtida em acetona, em volume de 100 mL, e o eluato foi concentrado a 2 mL em rotaevaporador à 20°C.

#### 4.3.2 CG – DIC

A análise cromatográfica foi realizada em CG modelo Carlo Erba 4300 (Carlo Erba, Itália), com DIC, através de coluna polar de sílica fundida Supelcowax<sup>TM</sup> 10 (Supelco, EUA), com dimensões de 30 m x 0,25 mm e filme com 0,25µm de espessura. O forno foi aquecido a 50-240°C, com elevação de 3°C por minuto, sendo posteriormente mantido a 240°C durante 20 min. O DIC e o injetor foram mantidos a 240°C e 230°C, respectivamente. A injeção foi realizada com divisor de 1:20. Os compostos foram identificados através de padronização externa e quantificados por padronização interna. O índice de *Kovatz* (IK) foi determinado com base na modificação realizada por VAN DEN DOOL; KRATZ (1963).

#### 4.3.3 CG- EM

A análise por CG-EM foi realizada em equipamento cujo modelo é Shimadzu GC-17A/QP-5050 (Shimadzu, Japão), com sistema de dados próprio, um *scan* cíclico de 1 s, um limite de massa de m/z 20-300 e voltagem de ionização a 70 ev. As condições cromatográficas e a coluna foram as mesmas descritas no subtópico 4.3.2. Somente os compostos identificados pela biblioteca de massas do equipamento (*National Institute of Standards and Technology 12.lib and 62.lib data systems*) em conjunto com padronização externa foram considerados como definitivamente identificados.

#### 4.3.4 CG-SNIFFING

A mesma coluna capilar e a mesma condição de programação mencionadas no item 4.3.2 foram usadas para avaliar a percepção odorífera através de um aparato artesanal. Um tubo de sílica oco foi usado como divisor (1:10), de modo que 9 em cada 10 partes foram percebidos por cada um dos três assessores e a nota odorífera foi qualificada livremente. Os padrões de referência também foram qualificados olfativamente por meio de CG-SNIFFING.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O estudo foi realizado com delineamento inteiramente casualizado, em triplica. Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através de teste de *Tukey*, considerando nível de confiança de 5% ( $p < 0,05$ ) (OriginPro versão 8.1.10.86) e por meio de análise de agrupamento hierárquico aglomerativo (*Cluster analysis*) (XLSTAT versão 07/02/2013). O Método de agrupamento compreende uma técnica quimiométrica que envolve a medição da distância ou similaridade entre os objetos a serem agrupados (TERRAB; DÍEZ; HEREDIA, 2002).



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 8 mostra, para cada mel de angico, o conteúdo de diversos parâmetros químicos, tal qual: umidade, acidez, prolina diastase, HMF, glicose e frutose. Foi aplicada apenas a estatística básica (média e desvio padrão) porque essas variáveis não permitiram tipificar a origem botânica do mel, provavelmente devido ao tamanho pequeno da amostragem ou porque a maioria dos parâmetros não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. O conteúdo de água ficou na faixa de 15,80-18,00 %, que concordou com os valores encontrados em méis de diferentes tipos florais da Caatinga (16,40-19,00 %) (SODRÉ et al., 2011), mas foram menores que os da Mata Atlântica do sudeste do Brasil (18,00-20,00 %) (COSTA et al., 1999; DA COSTA LEITE et al., 2000) e da Lituânia (18,80-20,20 %) (STELMAKIENĖ, et al., 2012). A acidez total das amostras analisadas apresentou uma variação de 16,40-18,00 millieq Kg<sup>-1</sup>, que ficou de acordo com o encontrado em outros méis da Mata Atlântica do sudeste do Brasil (15,60-17,90 millieq kg<sup>-1</sup>) (COSTA et al., 1999). Esses resultados, por outro lado, foram diferentes daqueles da Caatinga que mostraram uma grande variação de 10,00-53,80 kg millieq<sup>-1</sup> (MOREIRA et al., 2002, SODRÉ et al., 2011). Esta variação substancial foi favorecida pela elevada acidez (51,00-53,80 millieq Kg<sup>-1</sup>) normalmente encontrada nos méis de caju (*Anacardium occidentale*).

**Tabela 8.** Parâmetros químicos em amostras de mel de angico.

<b>Amostras</b>	<b>Umidade (%)</b>	<b>Prolina (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Acidez total (millieq.Kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Diastase (°G)</b>	<b>HMF (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Frutose (g%)</b>	<b>Glicose (g%)</b>	<b>Fru/Gli</b>
A1	18.00	320.00	16.40	12.20	15.10	42.10	34.10	1.23
A2	16.00	450.00	17.10	11.70	17.20	43.00	33.30	1.29
A3	17.80	295.00	17.60	10.20	13.40	42.70	32.60	1.31
A4	15.80	342.00	16.70	12.40	16.00	43.30	34.20	1.27
A5	16.50	373.00	18.00	11.20	13.80	42.40	33.00	1.28
A6	17.00	357.00	17.50	10.80	14.70	41.90	32.90	1.27
Média	16.75	349.50	17.30	11.45	14.90	42.55	33.15	1.28
D.P.	0.92	53.55	0.60	0.84	1.41	0.54	0.66	0.0

Os dados são apresentados como valores médios de seis experimentos independentes, em duplicata.

A - amostras angico °G - grau de *Gothe* HMF - hidroximetilfurfural

Fru/Gli - relação frutose/glicose D.P. - desvio padrão

O teor de prolina livre ficou dentro do limite de 295-450 mg kg<sup>-1</sup>, que foi significativamente ( $p < 0,05$ ) menor em comparação com o encontrado para o morrão de candeia (*Croton* sp.) (657-771 mg kg<sup>-1</sup>), assa-peixe (*Vernonia* sp.) (633-737 mg kg<sup>-1</sup>) e caju (1323-1481 mg kg<sup>-1</sup>), méis originários dos biomas Mata Atlântica, Cerrado (MATOS et al., 2002) e Caatinga (MOREIRA et al., 2002), respectivamente. Entretanto, o teor de prolina livre no mel de angico foi maior do que o achado em méis da Europa (189-292 mg kg<sup>-1</sup>) (JANISZEWSKA; ANIOŁOWSKA; NOWAKOWSKI, 2012). O valor mais elevado de prolina em algumas variedades de mel reflete, possivelmente, o trabalho intensivo das abelhas Brasileiras sobre o néctar recolhido através da adição de secreções glandulares. O conteúdo de HMF em amostras de angico apresentou uma variação menor (13,40-17,20 mg kg<sup>-1</sup>) do que a encontrada em méis de diferentes tipos florais da Caatinga (3,90-24,60 mg kg<sup>-1</sup>) (SODRÉ et al., 2011) e também em relação aos valores achados em méis de Portugal (1,31-13,84 mg kg<sup>-1</sup>) (IGLESIAS et al., 2012). Em contraste, as amostras de morrão de candeia (4,5-6,1 mg kg<sup>-1</sup>) e assa-peixe (2,6-3,8 mg kg<sup>-1</sup>), méis dos biomas Mata Atlântica e Cerrado, respectivamente, tiveram uma concentração de HMF significativamente menor ( $p < 0,05$ ) (MATOS et al., 2002). Na Figura 7 é apresentado um cromatograma de HMF em mel de angico e seu respectivo padrão. A atividade diastásica ficou na faixa de 11,4 a 12,4°G, o qual foi menor daquela achada em méis de morrão de candeia (13,2-16,7°G) e assa-peixe (13,2-18,5°G), méis dos biomas Mata Atlântica e Cerrado (MATOS et al., 2002), respectivamente, e também, em relação aos méis de Portugal (10-25°G) (FEÁS et al., 2010). Por outro lado, a atividade diastásica em méis de angico foi maior que a encontrada em méis de diferentes tipos florais da Caatinga (5,30-12,70°G) (RICARDO et al., 2002; SODRÉ et al., 2011).

```

CHROMATOPAC C-R6A          FILE      0
SAMPLE NO    0             METHOD     41
REPORT NO    626

```

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.152	13006			100	
TOTAL		13006			100	

PRINT LEVEL  
466.667  
START  
00/00/00 00:51:42

```

CHROMATOPAC C-R6A          FILE      0
SAMPLE NO    0             METHOD     41
REPORT NO    627

```

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.345	9569			17.0565	
2	1.878	41672			82.9435	
TOTAL		50241			100	

ATTEN(0)=2  
START  
00/00/00 00:55:24

```

CHROMATOPAC C-R6A          FILE      0
SAMPLE NO    0             METHOD     41
REPORT NO    628

```

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.355	8767			16.8096	
2	1.89	43386			83.1904	
TOTAL		52153			100	

PRINT LEVEL  
482.333  
START  
00/00/00 01:05:32

**Figura 7.** Cromatogramas do HMF padrão e de amostras de angico (A1).

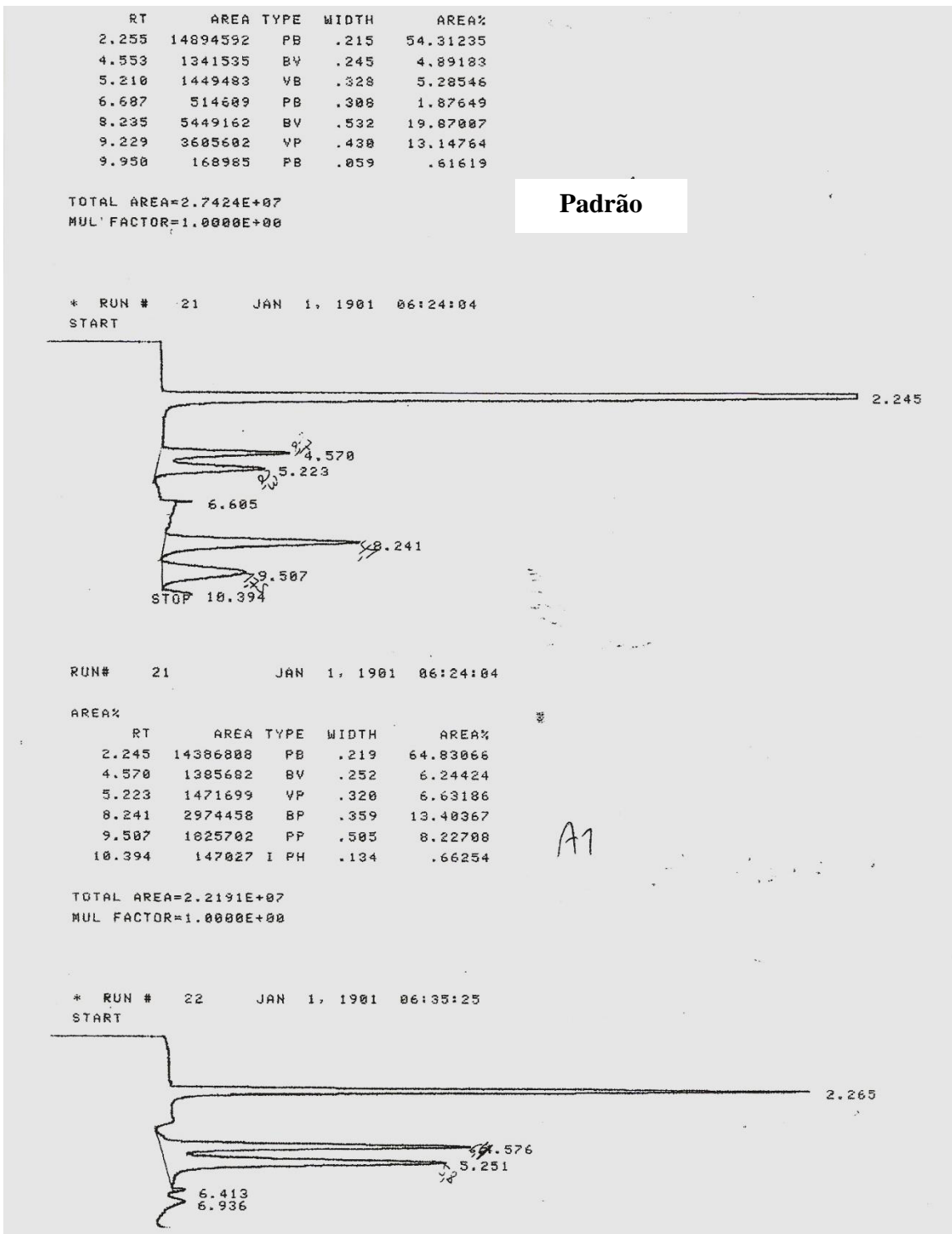
1 – Padrão de HMF 2 – Amostra de angico

Condições cromatográficas. Acetonitrila/água (15:85, v/v), fluxo: 1,3m min<sup>-1</sup>, detector: UV (280nm) coluna: ODSII.

O conteúdo de frutose e glicose em méis de angico variou entre 41,90-43,30 % e 32,60-34,20 %, respectivamente, o qual foi ligeiramente superior do que aquele verificado nos méis de morrão candeia (38,9-41,1 %, 31,6-33,0 %) e assa-peixe (38,6-41,0 %, 31,4-32,8 %), méis dos biomas Mata Atlântica e Cerrado (MATOS et al, 2002), respectivamente. Porém, foi significativamente ( $p < 0,05$ ) maior do que os resultados encontrados nos méis de caju (32,8-33,8 %; 25,8-26,9 %) e marmeleiro (38,2-39,1 %; 25,8-27,0 %), méis oriundos do bioma Caatinga (MOREIRA et al., 2002), e echium (*Echium vulgare*) (34,0-38,4 %; 27,8-34,9 %) e castanha (*Castanea sativa*) (30,1-33,3 %, 24,74-28,76 %), méis oriundos da Espanha (LEÓN-RUIZ et al., 2011). Um menor teor de monossacarídeos verificado em méis da Caatinga pode ser explicado pela baixa atividade da invertase quando as amostras são expostas ao ambiente quente do semiárido. O mesmo parece acontecer com a atividade diastásica. Em estudo anterior (MOREIRA et al., 2007), méis frescos do bioma Caatinga foram submetidos a armazenamento por 3 ou 6 meses a 35-40°C. Houve uma redução da atividade diastásica e, além disso, nem o conteúdo de hexose e nem a reação de transglicosilação, catalisada pela invertase, aumentou com o aquecimento da amostra submetida a condições controladas de temperatura. Na Figura 8 é apresentado um cromatograma do perfil de monossacarídeos em mel de angico e seu respectivo padrão.

Alguns autores, ao longo de duas décadas, têm investigado o conteúdo individual de oligossacarídeos na tentativa de classificar a florada de méis monoflorais a partir desse perfil (MATEO; BOSCH-REIG, 1997; DA COSTA LEITE et al., 2000; COTTE et al., 2004; MORALES; CORZO; SANZ, 2008; RUIZ-MATUTE et al., 2013; CONSONNI et al., 2013). O perfil de oligossacarídeos tem potencial para juntamente com outras análises indicar inequivocamente a florada. Com base neste princípio, o perfil de oligossacarídeos de méis de angico, do presente estudo, foi comparado com os obtidos previamente de méis de morrão de candeia da Mata Atlântica do sudeste do Brasil (DA COSTA LEITE et al., 2000; MATOS et al., 2002 e de marmeleiro do bioma Caatinga (DA COSTA LEITE et al., 2000; MOREIRA et al., 2002). No que diz respeito à variabilidade dos dados, a Tabela 9 mostra os valores individuais, a média e o desvio padrão para todos os oligossacarídeos encontrados nos três méis monoflorais (angico, morrão de candeia e marmeleiro). A maltose (valor médio = 3,98 g%) foi o principal dissacarídeo encontrado no angico, resultado similar ao achado em morrão de candeia (4,02 g%), marmeleiro (2,07 g%) e méis espanhóis (3,96 g%) (MATEO; BOSCH-REIG, 1997). A maltotriose não foi detectada em angico, mas atingiu valores médios de 0,22 g% e 0,57 g% nos méis de morrão de candeia e marmeleiro, respectivamente, e 0,01 g% em

méis de laranja (*Citrus sinensis*) dos EUA (RUIZ-MATUTE et al., 2008). Os valores médios para turanose, nigerose, sacarose, isomaltose, maltotriose, panose e rafinose achados em angico foram significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) do que os encontrados em méis de morrão de candeia e marmeleiro. Embora a amostragem fosse pequena, foi possível encontrar diferenças significativas entre os três tipos de mel com base em 70 % dos oligossacarídeos analisados. (Tabela 9). Desse modo, foi efetuado um tipo de análise multivariada denominada agrupamento hierárquico aglomerativo (*Cluster analysis*). A busca por agrupamentos naturais entre as amostras é uma forma preliminar para estudar a estrutura de dados. Os resultados apresentados como um dendograma foram capazes de mostrar a presença de aglomerados de mel em função da florada (Figura 9). A proximidade de objetos no p-espaco parece refletir a similaridade de suas propriedades. Os três tipos de mel foram agrupados em grupos independentes, mas o grupo do angico ficou mais próximo do grupo do morrão de candeia e ambos ficaram distantes do grupo do marmeleiro. As plantas angico e morrão de candeia são encontradas no bioma Mata Atlântica, enquanto o marmeleiro é típico de região semi-árida, onde predomina o bioma Caatinga. A Figura 10 mostra o perfil de classes do qual pode ser visto que a turanose, nigerose, panose e isomaltose são os principais contribuintes para a diferenciação dos três tipos de mel monofloral. Estes resultados indicam que a análise multivariada do tipo *Cluster analysis* parece ser capaz de agrupar méis tropicais Brasileiros de acordo com o tipo floral. Nas Figuras 11, 12, 13 e 14 são apresentados cromatogramas do perfil de oligossacarídeos em mel de angico e seus respectivos padrões.



**Figura 8.** Cromatogramas de monossacarídeos das misturas padrão e de amostras de angico (A1).

Condições cromatográficas: acetonitrila/água (85:15, v/v), fluxo: 1,5 mL min<sup>-1</sup>.

Detector: IR Coluna: Lichorsfere 5-NH<sub>2</sub> FRU - frutose GLI - glicose

**Tabela 9.** Perfil de oligossacarídeos em amostras de méis tropicais de angico, morrão de candeia\*\*e marmeleiro\*\*\*.

<b>Amostras</b>	<b>MAL</b>	<b>TUR</b>	<b>NIG</b>	<b>MEB</b>	<b>SAC</b>	<b>ISO</b>	<b>MTR</b>	<b>PAN</b>	<b>MEL</b>	<b>RAF</b>
<b>A1</b>	3.51	1.95	1.80	0.00	0.83	0.00	0.10	0.02	0.21	0.15
<b>A2</b>	4.12	1.76	2.15	0.00	0.97	0.00	0.12	0.00	0.17	0.09
<b>A3</b>	3.97	2.31	1.79	0.00	1.04	0.00	0.07	0.03	0.23	0.06
<b>A4</b>	4.54	2.17	1.66	0.00	1.09	0.00	0.05	0.02	0.15	0.11
<b>A5</b>	3.76	1.86	1.93	0.00	1.16	0.00	0.14	0.00	0.21	0.10
<b>A6</b>	4.00	2.05	2.03	0.00	0.95	0.00	0.08	0.01	0.16	0.09
<b>Média***</b>	3.99 <sup>a</sup>	2.00 <sup>a</sup>	1.87 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	1.01 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.02 <sup>a</sup>	0.19 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>
<b>D.P.</b>	0.35	0.20	0.18	0.00	0.12	0.00	0.03	0.01	0.03	0.03
<b>MC1</b>	4.70	4.90	0.00	0.00	0.60	0.70	0.20	0.50	0.20	0.20
<b>MC2</b>	3.70	5.30	0.00	0.00	0.20	0.30	0.20	1.50	0.20	0.40
<b>MC3</b>	3.50	4.00	0.00	0.00	0.40	0.50	0.40	1.20	0.30	0.40
<b>MC4</b>	4.20	4.80	0.00	0.00	0.30	0.80	0.10	0.90	0.10	0.50
<b>Média*</b>	3.85 <sup>a</sup>	4.85 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>a</sup>	0.35 <sup>b</sup>	0.60 <sup>b</sup>	0.20 <sup>b</sup>	1.05 <sup>b</sup>	0.20 <sup>a</sup>	0.40 <sup>b</sup>
<b>D.P.</b>	1.94	0.54	0.00	0.00	0.17	0.22	0.13	0.43	0.08	0.13
<b>M1</b>	1.80	0.78	0.90	0.14	0.48	1.60	0.50	0.26	0.03	0.16
<b>M2</b>	2.40	0.90	1.10	0.06	0.52	2.20	0.70	0.34	0.10	0.22
<b>M3</b>	1.90	0.85	1.15	0.13	0.51	2.10	0.60	0.32	0.07	0.17
<b>M4</b>	2.20	0.91	0.80	0.09	0.54	1.85	0.50	0.27	0.04	0.21
<b>Média**</b>	2.05 <sup>b</sup>	0.88 <sup>c</sup>	1.00 <sup>c</sup>	0.11 <sup>b</sup>	0.52 <sup>b</sup>	1.98 <sup>c</sup>	0.55 <sup>c</sup>	0.30 <sup>c</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.19 <sup>c</sup>
<b>D.P.</b>	0.28	0.06	0.17	0.04	0.03	0.27	0.10	0.04	0.03	0.03

a - Os valores médios em cada coluna com diferentes letras são significativamente diferentes sendo

p < 0,05 D.P. - desvio padrão

A- amostras de angico (Mata atlântica do sul) MC – amostras de morrão de candeia (Mata Atlântica do sudeste)

M - amostras de marmeleiro (Bioma Caatinga)

\*Os dados foram apresentados como médias de seis experimentos independentes em duplicatas \*\* Os dados

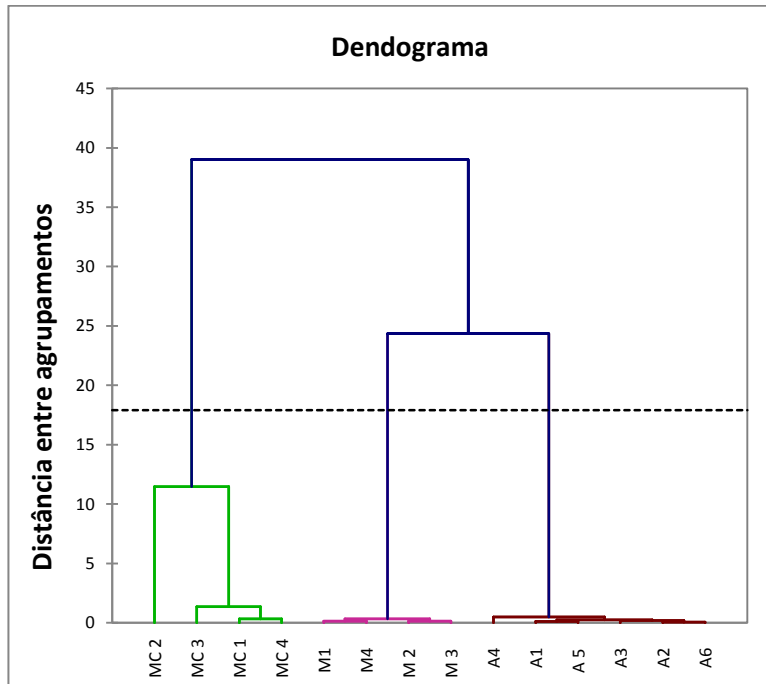
foram obtidos de artigos publicados anteriormente (da Costa Leite *et al.*, 2000. Matos *et al.*, 2002) \*\*\* Os dados

foram obtidos de artigos publicados anteriormente (da Costa Leite *et al.*, 2000; Moreira *et al.*, 2002) MAL -

maltose TUR - turanose NIG - nigerose MEB - melibiose SAC - sacarose ISO - isomaltose MTR - maltotriose

PAN - panose MEL – melezitose RAF - rafinose





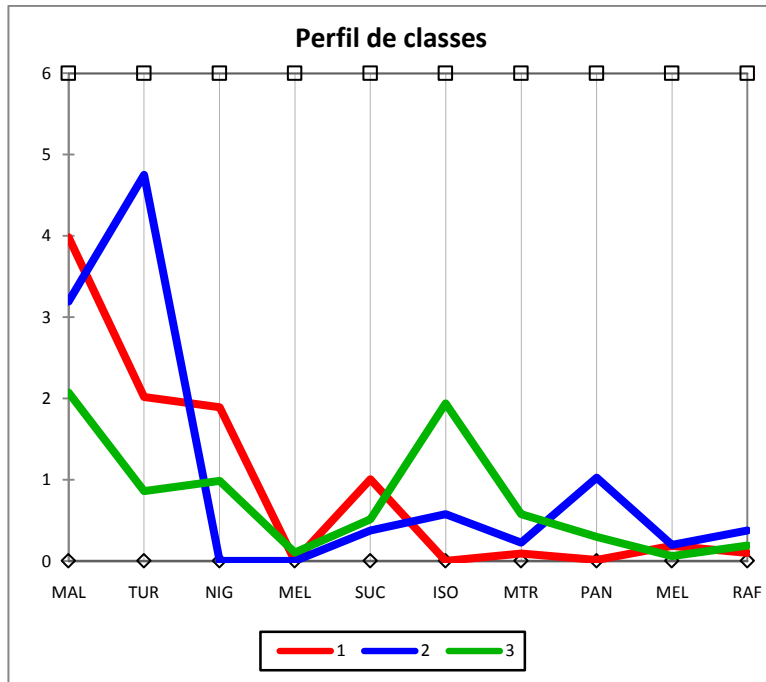
**Figura 9.** Dendrograma de *cluster analysis* de amostras de méis tropicais.

A – angico (Mata Atlântica da região sul)

MC - morrão de candeia (Mata Atlântica da região sudeste)

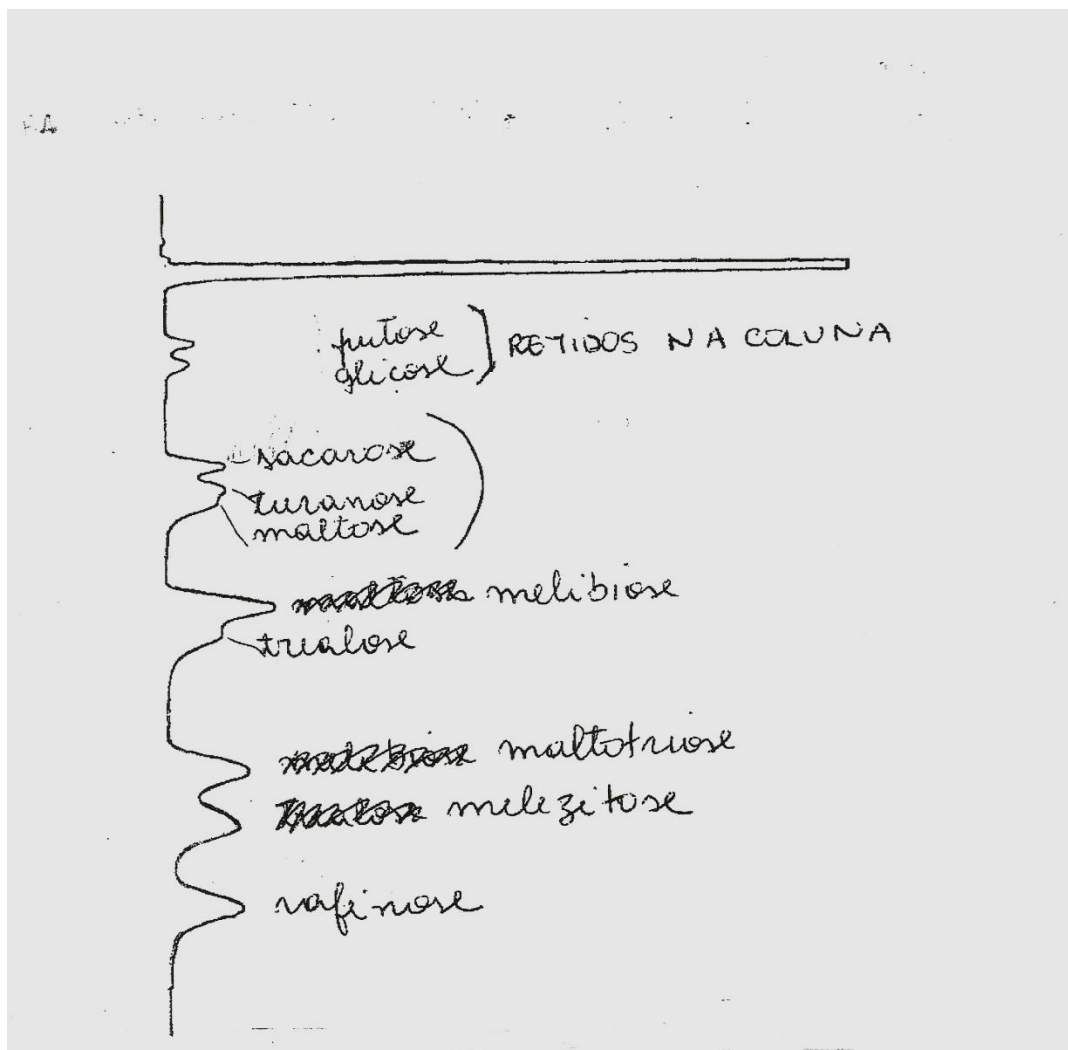
M - marmeleiro (bioma Caatinga)

A composição da fração volátil do mel de angico é apresentada na Tabela 10. Dezesesseis compostos foram identificados, onze dos quais foram identificados definitivamente através da aplicação de padrões de referência, da biblioteca de espectros de massas e IK. Embora tenha sido utilizada padronização externa e interna, nenhum método de recuperação ou correção foi aplicado ao CG e, assim, os resultados quantitativos apresentados são valores estimados. Óxido de linalol (trans-furanóide) (12,2-16,1 ppb) foi o composto volátil mais abundante, seguido por feniletanol (3,3-6,1 ppb), tetracosano (3,1-5,7 ppb) e 2-etil-hexanol (3,3-4,9 ppb). Já amostras de mel de cambará (*Gochnatia velutina*) da Mata Atlântica do sudeste (MOREIRA; DE MARIA, 2005) apresentaram valores de 9,2-13,9 ppb e <0,01 ppb para 2-etiletanol e feniletanol, respectivamente. O óxido de linalol (trans-furanóide) foi encontrado em concentrações muito baixas nos méis de caju e marmeleiro oriundos do bioma Caatinga (MOREIRA et al., 2002). A percepção dos compostos voláteis de méis de angico e padrões puros através da técnica de CG-SNIFFING permitiu a percepção do óxido de linalol (trans-furanóide) (notas: flor e como feno), 2-etilhexanol (nota verde), feniletanol (notas: floral e picante) e ácido fenilacético (notas: doce e mel). O feniletanol foi considerado um odorante importante para o aroma de méis de tília (*Tilia* sp.) e haze (*Corylus* sp.), ambos oriundos da Europa (BLANK; FISCHER; GROSCH, 1989), e também, para o aroma de méis de caju (bioma Caatinga) (MOREIRA et al., 2002), méis de morrão de candeia (bioma Mata Atlântica) e méis de assa-peixe (bioma Cerrado) (MATOS et al., 2002). O ácido fenilacético já foi identificado como um contribuinte importante para o aroma dos méis de urze (*Calluna vulgaris* L) e os de colza (*Brassica napus*), ambos oriundos da Europa (CUEVAS-GLORY et al., 2007), e, também, para os méis de caju e marmeleiro do bioma Caatinga (MOREIRA et al., 2002) e méis de cambará do bioma Mata Atlântica (MOREIRA; DE MARIA, 2005). O composto hotrienol identificado no mel de angico não tem sido descrito previamente na fração volátil de outros méis Brasileiros. Entretanto, o hototrienol tem sido detectado em mel de urze (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2012) e de cardo (*Carduus nutans*) (BIANCHI et al., 2011), ambos oriundos da Europa. A Figura 15 mostra as estruturas químicas de alguns compostos voláteis supostamente de importância para o aroma do mel de angico.



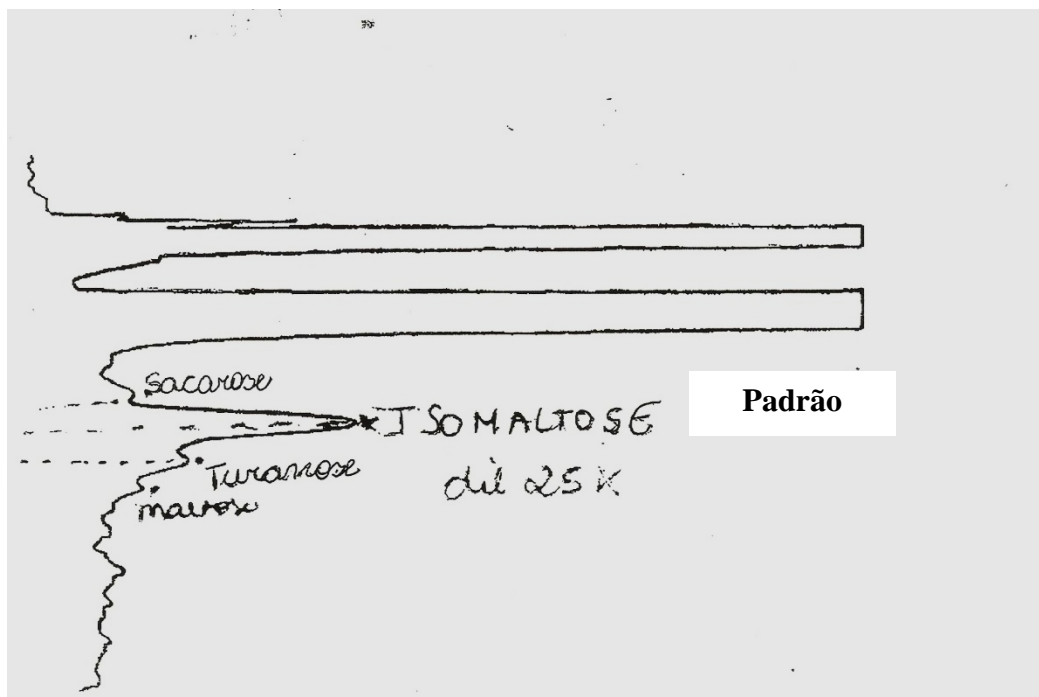
**Figura 10.** Perfis de classes de méis tropicais brasileiros.

- 1 - angico (Mata Atlântica da região sul)
- 2 - morrão de candeia (Mata Atlântica da região sudeste)
- 3 - marmeleiro (bioma Caatinga)



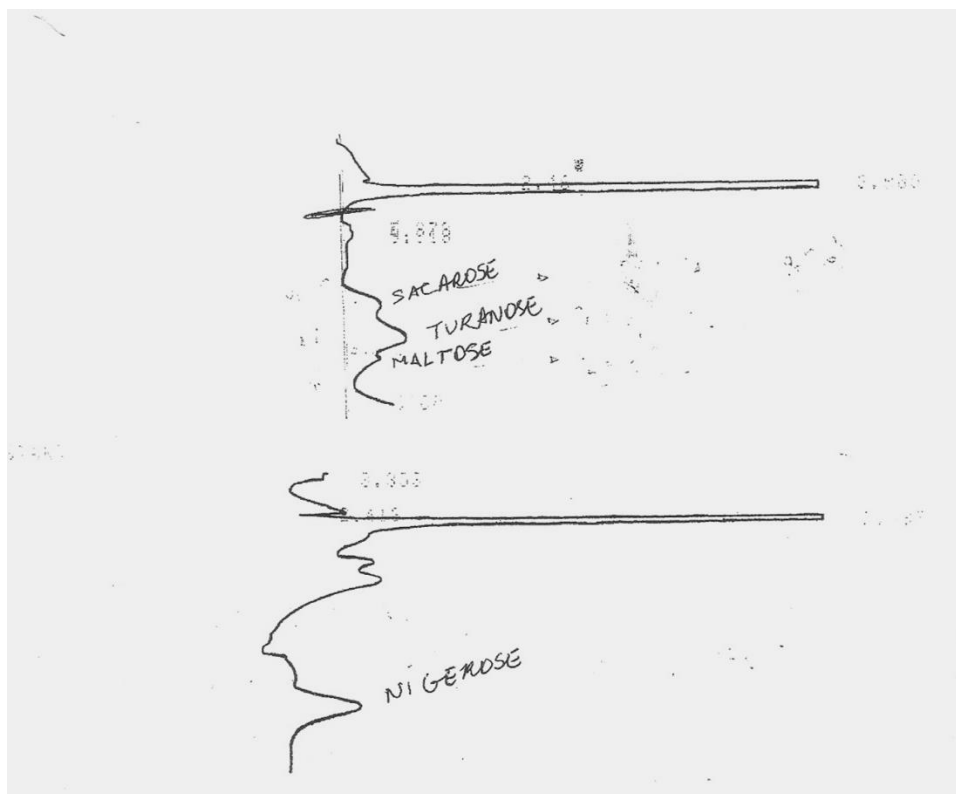
**Figura 11.** Cromatograma de oligossacarídeos da mistura de padrões.

Condições Cromatográficas: acetonitrila/água (85:15, v/v), fluxo: 1,2 mL min<sup>-1</sup>, detector: IR coluna: Lichorsfere 5-NH<sub>2</sub>.



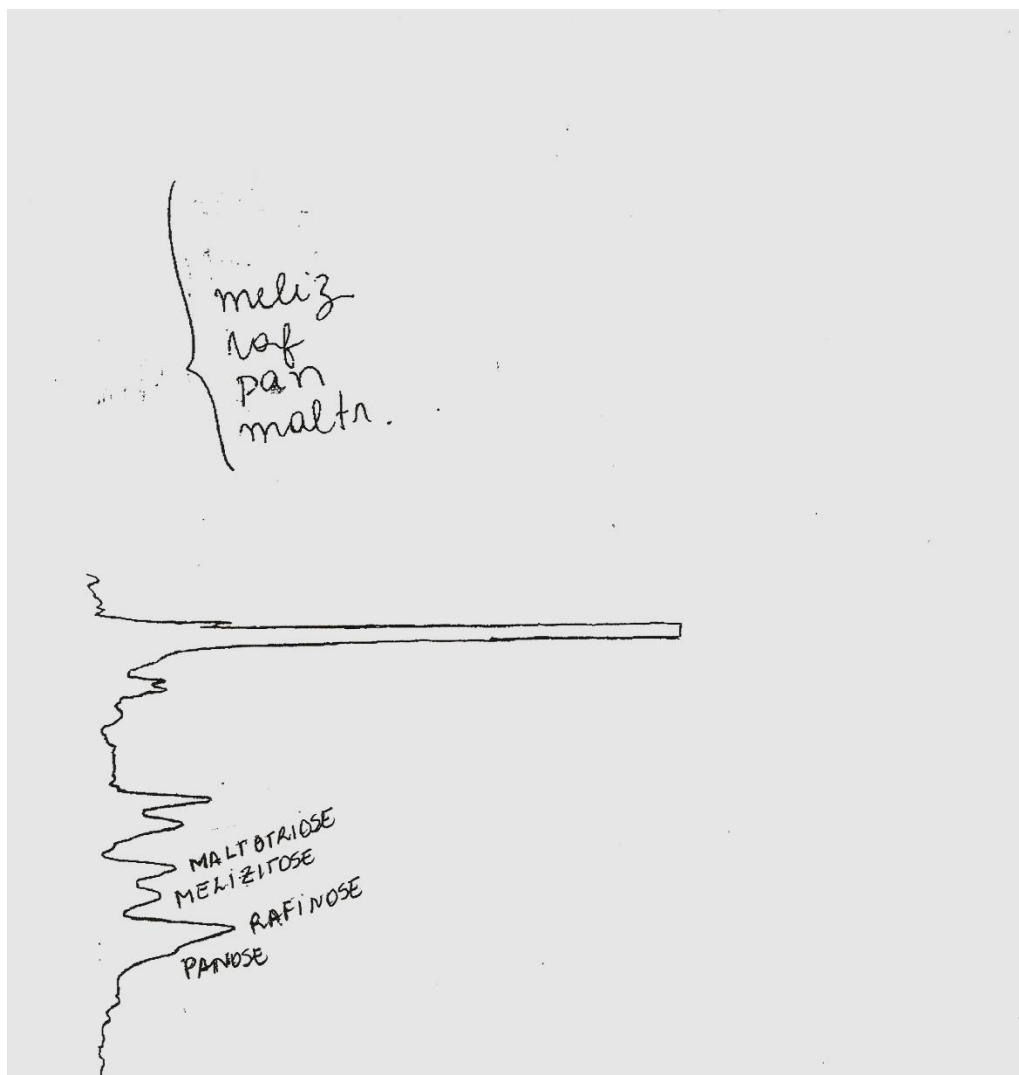
**Figura 12.** Cromatograma de oligossacarídios da mistura de padrões.

Condições Cromatográficas: acetonitrila/água (85:15, v/v), fluxo: 1,2 mL min<sup>-1</sup>, detector: IR  
coluna: Lichorsfere 5-NH<sub>2</sub>.



**Figura 13.** Cromatograma de oligossacarídios da amostra A1.

Condições Cromatográficas: acetonitrila/água (85:15, v/v), fluxo: 1,2 mL min<sup>-1</sup>, detector: IR  
coluna: *Lichorsfere 5-NH<sub>2</sub>*.



**Figura 14.** Cromatograma de oligossacarídios da amostra A1.

Condições Cromatográficas: acetonitrila/água (85:15, v/v), fluxo: 1,2 mL min<sup>-1</sup>, detector: IR  
coluna: *Lichorsfere 5-NH<sub>2</sub>*.

**Tabela 10.** Compostos voláteis do mel de angico.

<b>Compostos</b>	<b>IK</b>	<b>Concentração (ppb, média± D.P.)</b>	<b>Percepção odorífera</b>
<b>Trans-linalool oxido<sup>a</sup></b>	1449	14.3±1.6	similar ao feno, flores,
<b>2-etil-1-hexanol<sup>a</sup></b>	1498	4.2±0.5	grama
<b>Hexadecano<sup>a</sup></b>	1600	1.1±0.5	-
<b>Hotrienol<sup>b</sup></b>	1630	-	-
<b>Ácido 2-metil-butanóico<sup>a</sup></b>	1670	<0.01	-
<b>Feniletanol<sup>a</sup></b>	1942	4.4±0.9	fFloral, picante
<b>3-hexenil-hexanoato<sup>b</sup></b>	1948	-	-
<b>Heneicosano<sup>a</sup></b>	2059	1.5±0.4	-
<b>1-hidroxyllinalool<sup>b</sup></b>	2129	-	-
<b>Tetracosano<sup>a</sup></b>	2405	4.5±1.0	-
<b>Ácido benzóico<sup>a</sup></b>	-	3.7±0.5	-
<b>Ácido fenilacético<sup>a</sup></b>	-	2.7±0.5	mel, doce
<b>Hexacosano<sup>a</sup></b>	-	1.2±0.4	-
<b>Ácido fenilpropanodióico<sup>a</sup></b>	-	2.5±0.6	-
<b>Hexadecanóico<sup>a</sup></b>	-	<0.01	-
<b>Ácido 4-metoxi-fenilacético<sup>b</sup></b>	-	-	-

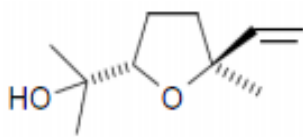
IK – Índice de *Kovatz* D.P. – Desvio padrão

a – identificação definitiva: via espectro de massas + composto referência

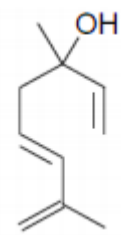
b – Tentativa de identificação: baseado somente em dados do espectro de massas

A média e o desvio padrão foram estabelecidos por valores encontrados em seis amostras diferentes.

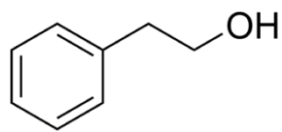




A



B



C

**Figura 15.** Estrutura química de alguns compostos voláteis identificados no mel de angico.  
A- óxido de linalol (trans-furanóide) B-hototrienol C- feniletanol

## 6. CONCLUSÃO

Todas as amostras de méis atenderam a legislação Européia (Directiva CE 2001/110) e a Legislação Brasileira;

Houve uma grande variabilidade nos parâmetros químicos do mel de angico descritos neste trabalho, quando comparado a outros méis Brasileiros e estrangeiros;

No entanto, foi possível observar que o angico apresentou valores mais elevados em frutose, glicose e HMF e valores de prolina e diastase menores do que outros méis tropicais e que estas diferenças foram independentes do bioma;

A análise por agrupamento hierárquico aglomerativo (*Cluster analysis*) indicou que o perfil de oligossacáridos, sobretudo o de turanose, nigerose, panose e isomaltose, poderia conter informação complementar para obter a caracterização da florada, não só para méis tropicais de diferentes origens florais e de diferentes biomas, como também a partir do mesmo bioma;

As informações obtidas no presente trabalho mostraram que o óxido de linalol (trans-furanóide), 2-etihexanol, feniletanol e ácido fenilacético poderiam ser importantes contribuidores para o aroma de mel angico;

A análise do hotrienol e da maltotriose poderia ser útil no futuro como ferramenta adicional para atestar a autenticidade do mel de angico, sobretudo o hotrienol que não tem sido identificado em outros méis Brasileiros;

O angico é um mel tropical exótico que tem um grande potencial para impulsionar a apicultura em biomas tropicais sujeitos à pressão antrópica e, portanto, ajudaria a manter as árvores de pé.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIO FINCO, F. D. B.; MOURA, L. L.; SILVA, I. G. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol. 30, n. 3, p. 706-712, 2010.

ABRAMOVIC, H. et al. Water activity and water content in Slovenian honeys. **Food Control**, vol. 19, p. 1086–1090, 2008.

AJLOUNI, S.; SUJIRAPINYOKUL, P. Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. **Food Chemistry**, vol. 119, p. 1000-1005, 2009.

ALISSANDRAKIS, E. et al. Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic–mass spectrometric analysis. **Food Chemistry**, vol. 100, n. 1, p. 396–404, 2007.

ALISSANDRAKIS, E. et al. Evaluation of four isolation techniques for honey aroma compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 85, p. 91–97, 2005.

ALISSANDRAKIS, E. et al. Ultrasound-assisted extraction gas chromatography–mass spectrometry analysis of volatile compounds in unifloral thyme honey from Greece. **Eur Food Res Technol**, vol. 229, p. 365–373, 2009.

ALISSANDRAKIS, E. et al. Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. **Food Chemistry**, vol. 82, n. 4, p. 575–582, 2003.

AL-KHALIFA, A.S.; AL-ARIFY, I. A. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. **Food Chemistry**, vol. 67, p. 21-25, 1999.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. et al. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, vol. 48, p. 1698–1706, 2013.

ALOISI, P. V. Determination of quality chemical parameters of honey from chubut (argentinean patagonia). **Chilean Journal of Agricultural Research**, vol. 70, n. 4, p. 640-645, 2010.

ALQARNI *et al.*, Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. **Arabian Journal of Chemistry**, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535212002699>> Acesso em: 11 de janeiro de 2013.

ALVAREZ, L. M. **Honey Proteins and their Interaction with Polyphenols**. 2011. 93f..Thesis (Master of Science) – Faculty of Mathematic and Sciences, Brock University, 2011.

ALVES, E. M. et al. Características físico-químicas de mel orgânico de abelhas africanizadas produzido nas ilhas do Rio Paraná. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 31, n. 3, p. 635-639, 2011.

AMRI, A.; LADJAMA, A. Physicochemical characterization of some multifloral honeys from honeybees *Apis mellifera* collected in the Algerian northeast. **African Journal of Food Science**, vol.7, n. 7, p. 168-173, 2013.

ANKLAM, E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. **Food Chemistry**, vol. 63, n. 4, p. 549–562, 1998.

ANKLAM, E.; RADOVIC, B. S. Suitable analytical methods for determining the origin of European honey. **American Laboratory**, p. 60–64, 2001.

AOAC. Official Methods of Analysis (15th ed.) K. Helrich (Ed.) Arlington, VA. USA: Association of Official Analytical Chemists, 1990.

AZEREDO, L. C. et al. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. **Food Chemistry**, vol. 80, p. 249-254, 2003.

BABACAN, S.; PIVARNIK, L.F; RAND, A.G. Honey Amylase Activity and Food Starch Degradation .**Journal of Food Science**, vol. 67, n. 5, p. 1625-1630, 2002.

BARRA, M. P.G.; PONCE-DÍAZ, M. C.; VENEGAS-GALLEGOS, C. Volatile compounds in honey produced in the Central Valley of Ñuble Province, Chile. **Chilean Journal of Agricultural Research**, vol. 70, n. 1, p. 75-84, 2010.

BELAY, A. et al. Physicochemical properties of the Hareenna forest honey, Bale, Ethiopia. **Food Chemistry**, vol. 141, p. 3386–3392, 2013.

BENDINI, J. N.; SOUZA, D. C. Caracterização físico-química do mel de abelhas proveniente da florada do cajueiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, vol. 38, n. 2, p. 565-567, 2008.

BIANCHI, F. et al.Characterization of the volatile profile of thistle honey using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Food Chemistry**, vol. 129, p. 1030–1036, 2011.

BOGDANOV, S. et al.Honey for Nutrition and Health: A Review. **Journal of the American College of Nutrition**, vol. 27, n. 6, p. 677–689, 2008.

BOGDANOV, S., MARTIN, P. Honey authenticity: a Review. **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, vol. 93, p. 232-254, 2002.

BOGDANOV, S. et al. Honey quality and international regulatory standards. Review of the work of the International Honey Commission. **Mitt.Lebensm.Hyg.**, vol. 90, p. 108-125, 1999.

BOGDANOV, S.; BAUMANN, E. Determination of sugar composition of honeys by HPLC. **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, vol. 79, p. 198–206, 1988.

BOGDANOV, S; RUOFF, K; PERSANO ODDO, L. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. **Apidologie**, vol. 35, p. S4-S17, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Diário Oficial da União**, nº 179, quinta-feira, 23 de outubro de 2000.

CARERI, M.; MANGIA, A.; BARBIERI, G.; BOLZONI, L.; VIRGILI, R.; PAROLARI, G. Sensory property relationship to chemical data italian-type dry-cured ham. **Journal of Food Science**, vol. 27, n. 5, p. 491–495, 1994.

CASTRO-VÁZQUEZ, L. et al. Changes in the volatile fractions and sensory properties of Heather honey during storage under different temperatures. **Eur Food Res Technol**, vol. 235, p. 185–193, 2012.

CAVIA, M. M. et al. Evolution of fructose and glucose in honey over one year: influence of induced granulation. **Food Chemistry**, vol. 78, p. 157–161, 2002.

CHEN, L. et al. Determination of Chinese honey adulterated with high fructose corn syrup by near infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, vol. 128, p.1110–1114, 2011.

CONSONNI, R.; CAGLIANI, L.R.; COGLIATI, C. Geographical discrimination of honeys by saccharides analysis. **Food Control**, vol. 32,n. 2, p. 543-548, 2013.

CORBELLA, E.; COZZOLINO, D. Classification of the floral origin of Uruguayan honeys by chemical and physical characteristics combined with chemometrics. **LWT**, vol. 39, p. 534–539, 2006.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; GELLI, D. S. Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d’abeilles africanisées Apis mellífera et de Méliponinés du Brésil. **Apidologie**, vol. 22, p. 61-73, 1991.

COSTA, L. S. M. et al. Determination of non-volatile compounds of diferent botanical origin Brazilian honeys. **Food Chemistry**, vol. 65, p. 347- 352, 1999.

COTTE, J. F. et al. Chromatographic analysis of sugars applied to the characterization of monofloral honey. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, vol. 380, p. 698–705, 2004.

CUEVAS-GLORY, L. F. et al. A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. **Food Chemistry**, vol. 103, p. 1032–1043, 2007.

D'O. SANT'ANA, L. et al. Characterization of Monofloral Honeys with Multivariate Analysis of Their Chemical Profile and Antioxidant Activity. **Journal of Food Science**, vol. 71, n. 1, p. 135 – 140, 2012.

DA COSTA LEITE, J. M. et al. Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin. **Food Chemistry**, vol. 70, n. 1, p. 93–98, 2000.

DE LA FUENTE, E. et al. Carbohydrate composition of Spanish unifloral honeys. **Food Chemistry**, vol. 129, n. 4., p. 1483–1489, 2011.

DE LA FUENTE, E., et al. Volatile and carbohydrate composition of rare unifloral honeys from Spain. **Food Chemistry**, vol. 105, p. 84–93, 2007.

DE LA FUENTE, E.; MARTINEZ-CASTRO, I.; SANZ, J. Characterization of Spanish unifloral honeys by solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, vol. 28, p. 1093–1100, 2005.

DONARSKI, J. A. et al. Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. **Food Chemistry**, vol. 118, p. 987–994, 2010.

DONER, L. W. The sugars of honey - A review. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, vol. 28, n. 5, p. 443-456, 1977.

EMBRAPA. **Sistemas de produção**. Disponível em:

<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/historico.htm>>.

Acesso em: 10 jan. 2013.

EREJUWA, O. O.; SULAIMAN, S. A.; AB WAHAB, M. S. A. Fructose Might Contribute to the Hypoglycemic Effect of Honey. **Molecules**, vol. 17, p. 1900-1915, 2012c.

EREJUWA, O. O.; SULAIMAN, S. A.; AB WAHAB, M. S. A. Honey - A Novel Antidiabetic Agent. **International Journal of Biological Sciences**, vol. 8, n. 6, p. 913-934, 2012b.

EREJUWA, O. O.; SULAIMAN, S. A.; AB WAHAB, M. S. A. Honey: A Novel Antioxidant. **Molecules**, vol.17, p. 4400-4423, 2012a.

ESCUREDO, O. et al. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. **Food Chemistry**, vol.149, p. 84–90, 2014.

EUROPEAN COMMISSION (EU). Council Directive 2001/110/EC, relating to honey, 20 of December 2001. **Official Journal of the European Communities**, p. 47-52, 12 of January 2002.

FÉAS, X. et al. Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. **Food and Chemical Toxicology**, vol. 45, p. 3462–3470, 2010.

FILHO, J. P. A. et al. Estudo físico-químico e de qualidade do mel de abelha comercializado no município de Pombal – PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, vol. 6, n. 3, p. 83-99, 2011.

GOMES, S. et al. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. 2010. Disponível em:  
<[http://www.researchgate.net/publication/38085931\\_Physicochemical\\_microbiological\\_and\\_antimicrobial\\_properties\\_of\\_commercial\\_honeys\\_from\\_Portugal](http://www.researchgate.net/publication/38085931_Physicochemical_microbiological_and_antimicrobial_properties_of_commercial_honeys_from_Portugal)> Acesso em: 4 de janeiro de 2013.

GOODALL, I. et al. Contribution of high-performance liquid chromatographic analysis of carbohydrates to authenticity testing of honey. **Journal of Chromatography A.**, vol. 706, n. 1-2, p. 353–359, 1995.



HEBBAR, H. U. et al. Microwave and Infrared Heat Processing of Honey and Its Quality. **Food Science and Technology Research**, vol. 9, n. 1, p. 49–53, 2003.

HOSNY, I. M.; ABDEL EL-GHANI, S.; NADIR, A. S.; Nutrient Composition and Microbiological Quality of Three Unifloral Honeys with Emphasis on Processing of Honey Probiotic Youghurt. **Global Veterinaria**, vol. 3, n. 2, p. 107-112,2009.

IGLESIAS, A. et al. Comprehensive Study of Honey with Protected Denomination of Origin and Contribution to the Enhancement of Legal Specifications. **Molecules**, vol. 17, p. 8561-8577, 2012.

IGWE, E. C. ; DANDAGO, M. A.; BINGA, E. N. Assessment of quality attributes of natural honey from Adamawa State North Eastern, Nigeria. **African Journal of Food Science**, Nigéria, vol. 6, n. 18, p. 449-455, set.2012.

IGWE, E. C.; DANDAGO, M. A.; BINGA, E. N. Assessment of quality attributes of natural honey from Adamawa State North Eastern, Nigeria. **African Journal of Food Science**, vol. 6, n. 18, p. 449-455, 2012.

ISLAM, A. et al. Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, vol. 12, 2012. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1472-6882/12/177>>. Acesso em:4 de janeiro de 2013.

JAGDISH, T., & JOSEPH, I. Quantification of saccharides in multiple floral honeys using Fourier transform infrared microattenuated total reflectance spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 52, p. 3237–3243, 2004.

JANISZEWSKA, K.; ANIOŁOWSKA, M.; NOWAKOWSKI, P. Free Amino Acids Content of Honeys from Poland. **Polish Journal Food and Nutrition Science**, vol. 62, n. 2, p. 85-89, 2012.

- JERKOVIC, I. et al. Headspace, volatile and semi-volatile patterns of Paliurus spina-christi unifloral honey as markers of botanical origin. **Food Chemistry**, vol. 112, p. 239–245, 2009.
- KADAR, M. et al. Differentiation of Acacia, Sunflower and Tilia Honeys from Different Countries Based on Sugar Composition, Physicochemical and Color Parameters. **Bulletin USAMV Agriculture**, vol. 67, n. 2, p. 252-258, 2010.
- KAHRAMAN, T. et al. Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. **Food Chemistry**, vol. 123, p. 41–44, 2010.
- KAŠKONIENE, V.; VENSKUTONIS, P. R.; ČEKŠTERYTE, V. Composition of volatile compounds of honey of various floral origin and beebread collected in Lithuania. **Food Chemistry**, vol. 111, p. 988–997, 2008.
- KASPEROVÁ, J. et al. Physico-chemical indicators and identification of selected Slovak honeys based on colour measurement. **Acta Veterinaria**, vol. 81, p. 57-61, 2012.
- KHALIL, I. et al. Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. **Molecules**, vol. 17, p. 11199-11215, 2012.
- KIRS, E. et al. Physicochemical and melissopalynological characterization of Estonian summer honeys. **Procedia Food Science**, vol. 1, p. 616 – 624, 2011.
- KIRS, E. et al. Physicochemical and melissopalynological characterization of Estonian summer honeys. **Procedia Food Science**, vol. 1, p. 616 – 624, 2011.
- KROPF, U. et al. Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. **Food Chemistry**, vol. 121, p. 839–846, 2010.
- KUROISHI, A. M. et al. Evaluation of honey crystallization from the colour and water activity parameters. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 84-91, 2012.

KUROISHI, A. M. et al. Avaliação da cristalização de mel utilizando parâmetros de cor e atividade de água. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 84-91, 2012.

LEÓN-RUIZ, V. et al. Vitamin C and Sugar Levels as Simple Markers for Discriminating Spanish Honey Sources. **Journal of Food Science**, vol. 76, n. 3, p. C356–C361, 2011.

LÍRIO, F. C. **Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de méis florais irradiados**. 2010. 154 f.. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2010.

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; WORWOHL, G. Methods of melissopalynology. **Bee World**, v. 59, n.4, p. 139-157, 1978.

MANYI-LOH, C. E.; CLARKE, A; NDIP, R. M. An overview of honey: Therapeutic properties and contribution in nutrition and human health. **African Journal of Microbiology Research**, vol. 5, n. 8 p. 844-852, 2011.

MANYI-LOH, C. E.; NDIP, R.; CLARKE, A. M. Volatile Compounds in Honey: A Review on Their Involvement in Aroma, Botanical Origin Determination and Potential Biomedical Activities. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 12, p. 9514-9532, 2011.

MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C.; OTSUK, I. P. Análise de agrupamento, com base na composição físico-química, de amostras de méis produzidos por apis mellifera no Estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 25, n. 1, p. 8-17, 2005.

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

MATOS, L. M. C. et al. Aroma compounds in morrão de candeia (Croton sp.) and assa-peixe (Vernonia sp.) honey., **Italian Journal Food Science**, v. 14, n. 3, p. 267-278, 2002.

MEDA, A. et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, vol. 91, p.571-577.

MOHAMMED, S. E. A. R.; BABIKER, E. E. Identification of the Floral Origin of Honey by Amino Acids Composition. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, vol. 4, n. 4, p. 552-556, 2010.

MOHAMMED, S. E.; KAMRAN AZIM, M. Characterisation of natural honey proteins: implications for the floral and geographical origin of honey. **International Journal of Food Science and Technology**, vol. 47, p. 362–368, 2012.

MORALES, V. et al. Combined use of HMF and furosine to assess fresh honey quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 89, p. 1332–1338, 2009.

MORALES, V.; CORZOA, N.; SANZ, M. L. HPAEC-PAD oligosaccharide analysis to detect adulterations of honey with sugar syrups. **Food Chemistry**, vol. 107, p. 922–928, 2008.

MOREIRA, R. F. A. et al. Chemical changes in the volatile fractions of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, vol. 121, n. 3, p. 697–704, 2010.

MOREIRA, R. F. A. et al. Chemical changes in the non-volatile fraction of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, vol. 104, vol. 3, p. 1236–1241, 2007.

MOREIRA, R. F. A., et al. Flavor composition of cashew (*Anacardium occidentale*) and Marmeleiro (*Croton* Species) honeys. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 50, p. 7616–7621, 2002.

MOREIRA, R. F. A.; DE MARIA, C. A. B. Investigation of the aroma compounds from headspace and aqueous solution from the cambará (*Gochnatia velutina*) honey. **Flavour Fragr. J.**, v. 20, n. 1, p. 13-17, 2005.

MOREIRA, R. F.; DE MARIA, C. A. B. Glicídios no mel. **Química Nova**, vol. 24, n. 4, p. 516-525, 2001.

MOURA, S. G. et al. Hidroximetilfurfural em méis de *Apis melifera* Linnaeus (Apoidea: Apidae) armazenados à temperatura ambiente e sob refrigeração, Piauí – Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, n.4, p.1077-1083, 2011.

MUNSTEDT, K. et al. Consumption of rapeseed honey leads to higher serum fructose levels compared with analogue glucose/fructose solutions. **European Journal of Critical Nutrition**, vol. 65, p. 77-80, 2011.

NAAB, O. A.; TAMAME, M. A.; CACCAVARI, M. A. Palynological and physicochemical characteristics of three unifloral honey types from central Argentina. **Spanish Journal of Agricultural Research**, vol. 6, n. 4, p. 566-576, 2008.

National Honey Board, Honey Varietals, 2010. Disponível em: <<http://www.honey.com/>>. Acesso em: 2 de abril de 2013.

NIGUSSIE, K.; SUBRAMANIAN, P.A.; MEBRAHTU, G. Physicochemical analysis of tigray honey: an attempt to determine major quality markers of honey. **Chemical Society of Ethiopia**, vol. 26, n. 1, p. 127-133, 2012.

NOZAL, M. J. et al., Rapid and sensitive method for determining free amino acids in honey by gas chromatography with flame ionization or mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, vol. 1047, p. 137–146 2004.

ODDO, L. P. et al. Composition and Antioxidant Activity of *Trigona carbonaria* Honey from Australia. **Journal of Medicinal Food**, vol. 11, n. 4, p. 789–794, 2008.

OUCHEMOUKH, S.; LOUAILECHE, H.; SCHWEITZER, P.; Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. **Food Control**, vol. 18, p. 52 – 58, 2007.

OVERTON, S. V.; MANURA, J. J. Flavor and aroma in natural bee honey. **American Laboratory**, 1994.

OZBALCI, B. et al. Rapid analysis of sugars in honey by processing Raman spectrum using chemometric methods and artificial neural networks. **Food Chemistry**, vol. 136 p. 1444–1452, 2013.

OZCAN, M.; ARSLAN, D.; CEYLAN, D. A. Effect of inverted saccharose on some properties of honey. **Food Chemistry**, vol. 99, p. 24–29, 2006.

PASINI, F. et al. Buckwheat honeys: Screening of composition and properties. **Food Chemistry**, vol. 141, p. 2802–2811, 2013.

PIRES, J. et al. Pollen spectrum and physico-chemical attributes of heather (*Ericasp.*) honeys of north Portugal. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 89, p. 1862–1870, 2009.

PONTARA, L. P. M. et al. Caracterização físico-química e microbiológica de amostras de mel de flores de mandioca produzido por abelhas africanizadas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 32, n. 3, p. 547-552, 2012.

RADOVIC, B. S. et al. Contribution of dynamic headspace GC±MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. **Food Chemistry**, vol. 72, p. 511-520, 2001.

RIBEIRO, M. C.; MOREIRA, R. F. A; DE MARIA, C. A. B. Volatile profile of the headspace fraction of “assa-peixe” (*Vernonia sp.*) honeys. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol. 28, n. 1, p. 169-171, 2008.

RISNER, C. H. et al. An Aqueous High-Performance Liquid Chromatographic Procedure for the Determination of 5-Hydroxymethylfurfural in Honey and Other Sugar-containing Materials. **Journal of Food Science**, vol. 71, n. 3, 2006;

RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast capillary electrophoresis method for determination of carbohydrates in honey samples. **Talanta**, vol. 93, p. 62–66, 2012.

RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast MECK method for determination of 5-HMF in honey samples. **Food Chemistry**, vol. 133, p. 1640–1645, 2012.

RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast MECK method for determination of 5-HMF in honey samples. **Food Chemistry**, vol. 133, p. 1640–1645, 2012.

RODRIGUEZ, B. A. et al. Quality Parameters and Antioxidant and Antibacterial Properties of Some Mexican Honeys. **Journal of Food Science**, vol. 71, n. 1, p. 121-127, 2012.

RODRIGUEZ, G. O. et al. Characterization of honey produced in Venezuela. **Food Chemistry**, vol. 84, p. 499–502, 2004.

RUISINGER, B.; SCHIEBERLE, P. Characterization of the Key Aroma Compounds in Rape Honey by Means of the Molecular Sensory Science Concept. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 60, p. 4186–4194, 2012.

RUIZ-MATUTE, A. I. et al. A New Methodology Based on GC–MS to Detect Honey Adulteration with Commercial Syrups. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 55, p. 7264–7269, 2007.

RUIZ-MATUTE, A. I. et al. Fractionation of Honey Carbohydrates Using Pressurized Liquid Extraction with Activated Charcoal. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, vol. 56, p. 8309–8313, 2008.

RUIZ-MATUTE, A. I. et al. Gas chromatographic–mass spectrometric characterization of tri- and tetrasaccharides in honey. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, vol. 120, p. 637-642, 2010.

RUIZ-MATUTE, A. I.; SANZ, M. L.; MARTINEZ-CASTRO, I. Use of gas chromatography–mass spectrometry for identification of a new disaccharide in honey. **Journal of Chromatography A**, vol. 1157, p. 480–483, 2007.

RUIZ-MATUTE, A. I.; SANZ, M. L.; SORIA, A. C. **Food Authentication using Bioorganic Molecules**. Pennsylvania: Destech Publications, 2013, 413 p.

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

SALONEN, A.; JULKUNEN-TIITTO, R. Characterisation of two unique unifloral honeys from the boreal coniferous zone: lingonberry and mire honeys. **Agricultural and Food Science**, vol. 21, p. 159-170, 2012.

SANCHEZ, V. et al. Comparison between Karl Fischer and refractometric method for determination of moisture in honey. **Food Control**, vol. 21, p. 339-341, 2010.

SANZ, M. L. et al. 2-Furoylmethyl Amino Acids and Hydroxymethylfurfural As Indicators of Honey Quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 51, p. 4278–4283, 2006.

SANZ, M. L.; SANZ, J.; MARTINEZ-CASTRO, I. Gas chromatographic–mass spectrometric method for the qualitative and quantitative determination of disaccharides and trisaccharides in honey. **Journal of Chromatography A**, vol. 1059, p. 143–148 2004.

SENYUVA, H. Z. et al. Profiling Turkish Honeys to Determine Authenticity Using Physical and Chemical Characteristics. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, vol. 57, n. 9, p. 3911-3919, 2009.

SEREIA, M. J. et al. Physicochemical characteristics and pollen spectra of organic and non-organic honey samples of *Apis mellifera* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 83, n. 3, p. 1077-1090, 2011.



SERRANO, S. et al. Chemical and physical parameters of Andalusian honey: classification of Citrus and Eucalyptus honeys by discriminant analysis. **Food Chemistry**, vol. 87, p. 619–625, 2004.

SGARIGLIA, M. A. et al. Properties of honey from *Tetragonisca angustula fiebrigi* and *Plebeia wittmanni* of Argentina. **Apidologie**, vol. 41, p. 667-675, 2010.

SHIMODA, M.; WU, Y.; OSAJIMA, Y. Aroma compounds from aqueous solution of haze (*Rhus succedanea*) honey determined by adsorptive column chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 12, p. 3913-3918, 1996.

SODRÉ, G. S. et al. Physico-chemical characteristics of honey produced by *Apis mellifera* in the Picos region, state of Piauí, Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 40, n.8, 2011.

SORIA, A.C.; MARTINEZ-CASTRO, I.; SANZ, J. Analysis of volatile composition of honey by solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, vol. 26, p. 793–801, 2003.

STELMAKIENĖ, A. et al. Examination of rheological and physicochemical characteristics in Lithuanian honey. **African Journal of Biotechnology**, vol. 11, n. 60, p. 12406-12414, 2012.

SUARÉZ-LUQUE, S. et al. Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, vol. 955, p. 207–214, 2002.

SWALLOW, K. W.; LOW, N. H. Analysis and quantitation of the carbohydrates in honey using high-performance liquid chromatography. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, vol.38, n. 9, p. 1828–1832, 1990.

TERRAB, A.; DÍEZ, M. J.; HEREDIA, F. J. Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. **Food Chemistry**, vol. 79, p. 373-379, 2002.

TOSI, E. et al. Honey diastase activity modified by heating. **Food Chemistry**, vol. 106 p. 883–887, 2008.

TOSI, E. et al. Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. **Food Chemistry**, vol. 77, p. 71–74, 2002.

TRUZZI, C. et al. Determination of Very Low Levels of 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) in Natural Honey: Comparison Between the HPLC Technique and the Spectrophotometric White Method. **Journal of Food Science**, vol. 77, n. 7, p.C784-C790, 2012.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VARGAS, T.; **Avaliação da qualidade do mel produzido na região dos Campos Gerais do Paraná**. 2006. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná, 2006.

VENIR, E.; SPAZIANI, M.; MALTINI, E. Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. **Food Chemistry**, vol. 122, p. 410–415, 2010.

VIT, P. et al. Expanded parameters to assess the quality of honey from Venezuelan bees (*Apis mellifera*). **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**, vol. 1, n. 3, p. 72 -81, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION.Food and Agricultural Organization of the United Nations.Codex Alimentarius. **Food Hygiene Basic Texts**, Rome, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION.Food and Agricultural Organization of the United Nations.**FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/345/default.aspx>> .Acesso em: 10 jan. 2013.

ZHOU, Q.; WINTERSTEEN, C. L.; CADWALLADER, K. R. Identification and quantification of aroma-active components that contribute to the distinct malty flavor of

buckwheat honey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 50, n. 7, p. 2016–2021, 2002.

## **8. ANEXOS**

**ANEXO A. MANUSCRITO SUBMETIDO AO BOLETIM DE PESQUISA DO CENTRO DE PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS.**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO MEL DE *APIS MELLIFERA* REVISITADA. PARTE 1: UMIDADE, ACIDEZ, PROLINA, HIDROXIMETILFURFURAL, DIASTASE E GLICÍDIOS.**

Ândria Santos<sup>1</sup> e Carlos A. B. De Maria<sup>1,2\*</sup>

1- Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO),

2- Departamento de Saúde Coletiva, Instituto Biomédico, UNIRIO, Rua Frei Caneca, 94, 20211-040 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

## RESUMO

A análise de umidade, acidez, prolina e hidroximetilfurfural (HMF) e atividade diastásica tem sido usada a anos para medir a qualidade do mel . A umidade é o critério de qualidade que determina a capacidade do mel para permanecer estável e resistir a deterioração, enquanto a acidez pode indicar fermentação por microrganismos. O teor de HMF é o índice mais confiável para monitorar superaquecimento e controle das condições de armazenamento do mel. Os méis monoflorais contêm uma mistura complexa de glicídios, principalmente, glicose e frutose; outros açúcares estão presentes em concentrações minoritárias, dependendo da origem floral. O perfil de oligossacarídios é usado não só para tipificar a origem botânica e geográfica como também para identificar a adulteração com produtos a base xarope de milho.

Palavras-chave: méis monoflorais, fração não volátil, glicídios

**CHEMICAL COMPOSITION OF *APIS MELLIFERA* HONEYS REVISITED. PART 1: MOISTURE, ACIDITY, PROLINE, HYDROXYMETHYLFURFURAL, DIASTASE AND CARBOHYDRATES.**

**ABSTRACT.**

Levels of moisture, acidity, proline and hydroxymethylfurfural (HMF) and diastase testing, for measuring honey quality have been in use for very years. Moisture is the quality criterion that determines the capability of honey to remain stable and to resist spoilage while acidity can indicate fermentation by microorganisms. HMF content is more reliable heating/storage index in honey.

Unifloral honeys contain a complex mixture of carbohydrates, mainly glucose and fructose; other sugars are present as traces, depending on the floral origin. Oligosaccharide profile is used not only to typify botanical and geographic origin as also to identify adulteration by corn syrup products.

Keywords: floral honey, non volatile fraction, carbohydrates

## INTRODUÇÃO

O mel é um produto de origem animal com sabor doce natural produzido pelas abelhas e utilizado como alimento pelo homem desde a pré-história. Entre as espécies produtoras, as do gênero *Apis* são as mais conhecidas e difundidas (EMBRAPA, 2003). Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (2000), *mel é o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia*. Pode ser classificado em monofloral ou unifloral, quando procede de néctar extraído da mesma origem de flores (espécie, gênero ou família), e multifloral ou polifloral, quando é elaborado a partir de néctar obtido de diferentes origens florais. Os méis produzidos a partir de secreções procedentes de partes vivas das plantas ou excreções de insetos sugadores são classificados como melato (Codex Alimentarius, 2004; Lírio, 2010; Igwe *et al.*, 2012).

Ele é composto por cerca de 180 substâncias diferentes como: oligossacarídeos, enzimas, compostos nitrogenados, ácidos orgânicos, vitaminas, minerais, compostos voláteis, compostos fenólicos ácidos, flavonóides, pigmentos e grãos de pólen, podendo conter ainda cera de abelhas procedente do processo de extração. Seus principais constituintes são: água, frutose e glicose (Brasil, 2000; Hosny, *et al.*, 2009; Khalil *et al.*, 2012). Embora a água e os monossacarídeos representem 95 % ou mais do peso total, o mel é uma matriz alimentar de elevada complexidade (Azeredo *et al.*, 2003).

O seu consumo como alimento têm por finalidade adoçar e agregar sabor a bebidas, molhos, produtos de panificação entre outras diversas preparações dietéticas (Fea *et al.*, 2010). Contudo, apresenta ampla utilização não somente como alimento mas também na conservação de frutas e grãos; como medicamento devido às suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e cicatrizantes, possuindo ainda ação prebiótica devido ao seu perfil de oligossacarídeos (Meda *et al.*, 2005; Vargas, 2006; Hosny *et al.*, 2009; Ouchemoukh *et al.*, 2012). A quantidade *per capita* consumida no mundo é variável conforme a região geográfica e classe social da população. Na América Central, ocorre o maior consumo *per capita* com 380 g por ano, seguido da Grécia e Ucrânia, ambas com *per capita* anual de 150 g. Na África, o maior consumo *per capita* vem de Angola com 140 g (FAO, 2009).

A qualidade do mel é definida pelas suas características sensoriais, físico-químicas e microbiológicas (Khalil *et al.*, 2012), as quais são normatizadas através dos parâmetros apresentados no Codex Alimentarius (2004) e diretrizes da União Européia (2002). Diferenças na composição química do mel estão diretamente relacionadas às condições de sua produção, a qual depende da abundância e origem das flores na área de ação das abelhas, qualidade do néctar, tipo de pólen, condições climáticas e de estocagem (Azeredo *et al.*, 2003). Por outro lado, uma vez que a flora brasileira é muito diversificada, devido à sua extensão territorial e a variabilidade do clima existente, é essencial conhecer a composição química dos méis monoflorais brasileiros e estabelecer padrões de identidade, tendo em consideração a vasta diversidade botânica e variações climáticas específicas de cada região (Alves *et al.*, 2011). Muitos méis monoflorais são encontrados nos biomas brasileiros ameaçados, como é o caso dos méis de morrão de candeia (*Croton* sp.) da Mata Atlântica e de marmeleiro (*Vernonia* sp.) do cerrado. Nesse



contexto, o presente estudo revisa a composição química de méis florais brasileiros e estrangeiros, considerando os parâmetros químicos supracitados.

## **COMPOSTOS NÃO VOLÁTEIS**

### **UMIDADE**

O conteúdo de água é um parâmetro muito importante para avaliar a qualidade do mel, influenciando diretamente os seguintes aspectos: viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização e conservação. A água presente no mel apresenta forte interação com os glicídios, diminuindo sua disponibilidade para o desenvolvimento microbiológico. Portanto, méis com elevada umidade são mais suscetíveis à fermentação. A umidade no mel não deve exceder 20 % conforme padrão de identidade e qualidade estabelecido por órgãos nacionais e internacionais (MAPA, 2000; Codex Alimentarius, 2004). Estudos realizados na América do Sul mostraram teores de umidade entre 18,3 % a 18,8 % para amostras de méis poliflorais e valores de 12,3 % a 18,5 % em méis monoflorais (Cortopassi-Laurino & Gelli, 1991; Costa *et al.*, 1999; Bendini & Souza, 2008; Vit *et al.*, 2009; Sgariglia *et al.*, 2010; Alves *et al.*, 2011; Naab *et al.*, 2012; Pontara *et al.*, 2012). Amostras de méis comerciais analisadas na Ásia apresentaram teor de 16 % de umidade (Kahraman *et al.*, 2010). Já méis poliflorais produzidos na África apresentaram uma grande variação partindo de 13,2 % a 19,1 % em amostras da Argélia, enquanto que em méis da Etiópia a umidade variou entre 18,6 % a 18,8 % (Ouchemoukh *et al.*, 2007; Nigussie *et al.*, 2011; Khalil *et al.*, 2012). Em méis da Europa foram encontrados de 14,0 % a 19,2 % de umidade, dentre amostras monoflorais e multiflorais (Gomes *et al.*, 2010; Kirs *et al.*, 2011; Iglesias *et al.*, 2012; Kasperová *et al.*, 2012; Salonen & Julkunen-Tiitto, 2012). Tais variações do conteúdo de umidade do mel são devido a variáveis como: época de colheita, fatores climáticos, grau de maturação na colmeia e manipulação dos apicultores no período de colheita. (Gomes *et al.*, 2010; Kahraman *et al.*, 2010; Sanchez *et al.*, 2010; Filho *et al.*, 2011; Iglesias *et al.*, 2012; Kuroishi *et al.*, 2012; Almeida-Muradian *et al.*, 2013). Dessa forma, a análise de umidade é uma ferramenta que pode ser utilizada para avaliar condições de vida de prateleira, adulteração por adição de água e grau de maturação adequado à colheita, não sendo adequada para indicar a região geográfica ou espécie floral de origem do mel. Na Tabela 1, é listado um grupo de estudos descrevendo o teor de umidade em méis monoflorais do Brasil e do exterior.

Incluir Tabela 1

### **ACIDEZ**

A acidez do mel é originária de duas fontes: ácidos orgânicos oriundos de diferentes fontes de néctar e ação da enzima D-glicose oxidase que catalisa a conversão de D-glicose em ácido glicônico (Figura 1) o qual corresponde a cerca de 70-90 % dos ácidos orgânicos do mel.

Incluir Figura 1

Esse ácido está em equilíbrio com suas lactonas correspondentes (Abadio Finco *et al.*, 2010). Outros tipos de ácidos orgânicos também podem ser encontrados no mel, como os ácidos: acético, butírico, cítrico, fórmico, láctico, málico, piroglutâmico e succínico (National Honey Board, 2004). Inclusive, a concentração de ácido cítrico pode ser utilizada como um parâmetro para diferenciar mel floral de mel de melato, já que este último tem um teor elevado desse ácido (Suaréz-Luque, 2002; Belay *et al.*, 2013). A acidez do mel pode ainda ser influenciada pela ação bacteriana durante a etapa de maturação e pelo seu conteúdo mineral (Pontara *et al.*, 2012; Alqarni *et al.*, 2012). Na Tabela 2, podem-se observar variações importantes entre o conteúdo de acidez em méis de mesma origem floral e produzidos no mesmo país, porém em

regiões diferentes, como o caso do mel de eucalipto, o qual apresentou teores de acidez desde 13 meq kg<sup>-1</sup> até 38,5 meq kg<sup>-1</sup>.

Incluir Tabela 2

Valores de acidez livre acima de 50 meq kg<sup>-1</sup> (Codex alimentarius, 2004) indicam que houve processo de fermentação dos açúcares pelas leveduras. Durante tal fermentação, a glicose e a frutose são convertidas em dióxido de carbono e alcoóis, sendo esses últimos hidrolisados na presença de oxigênio e convertidos em ácidos (ácido acético, principalmente) (Ajlouni & Sujirapinyokul, 2009).

O valor de pH, assim como o de acidez total, é influenciado pela origem floral do mel, porém não constitui marcador específico. Em análises de méis monoflorais de diversos estudos é possível observar que os valores de pH variam dentro de uma faixa, geralmente entre 3,0 e 4,5 sem que haja pontos específicos conforme a variedade floral (Tabela 2), embora a faixa de pH comumente referida na literatura para méis florais seja de 3,5-4,5 (Belay *et al.*, 2013).<sup>39</sup> Contudo, ele constitui um importante parâmetro de vida de prateleira, sofrendo variações conforme as condições de extração e armazenamento. Méis muito ácidos podem indicar uma possível fermentação de açúcares em ácidos orgânicos, devido à contaminação microbiana (Corbella *et al.*, 2006; Nigussie *et al.*, 2011; Islam *et al.*, 2012; Khalil *et al.*, 2012; Paisini *et al.*, 2013).

#### PROLINA

A concentração de proteínas e aminoácidos varia conforme a origem botânica, geográfica e tempo de estocagem, e corresponde a 0,2 a 0,4 mg 100 g<sup>-1</sup> de mel (Alvarez *et al.*, 2011). Mohammed *et al.* (2012) conseguiram diferenciar amostras de méis poliflorais e monoflorais através da diferenciação dos seus perfis de aminoácidos utilizando a espectrometria de massas. Outro estudo com méis da Austrália identificou os principais aminoácidos presentes nas amostras e realizou a diferenciação das origens botânicas usando análise multivariada, tais quais: análise discriminante, componentes principais e *cluster analysis* (Mohammed & Babiker, 2010). O teor de compostos nitrogenados é representado, principalmente, pela presença de enzimas (diastase, invertase e glicose oxidase) e alguns aminoácidos livres (18 aminoácidos essenciais e não-essenciais) (Jagdish & Joseph, 2004), dentre os quais a prolina é o mais abundante, representando 80 a 90 % do teor total (Moreira *et al.*, 2007). É um aminoácido importante que se origina principalmente a partir de secreções salivares de abelhas melíferas durante a conversão de néctar em mel. O seu teor no mel também indica grau de maturação e, em alguns casos, adulteração por adição de açúcar devido à redução do teor de prolina em valores relativos (Bogdanov *et al.*, 1999). Amostras de méis comerciais da Argélia apresentaram teores de prolina de 1692-2712 mg kg<sup>-1</sup>. Estudo com méis monoflorais mexicanos verificou uma correlação positiva entre o conteúdo de prolina e o potencial antioxidante através de ensaio de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Rodriguez *et al.*, 2012). Janiszewska *et al.* (2012) analisaram a composição de méis poloneses e concluíram que o teor de prolina não é capaz de indicar a origem botânica do mel, dada a sua variabilidade entre as amostras de mesma origem. Além disso, a prolina é um composto que praticamente não se altera quando o mel é aquecido e parece haver uma correlação entre este parâmetro e a atividade da invertase. Estudos sugerem que o conteúdo de prolina pode ser utilizado como um marcador da atividade de invertase no mel. Dessa forma, se o mel é aquecido será encontrada atividade reduzida desta enzima e conteúdo elevado de prolina. Caso o teor de prolina seja pequeno juntamente com baixa atividade da invertase, provavelmente a atividade enzimática é devido a uma peculiaridade do produto

(Moreira *et al.*, 2010). Na Tabela 3, são apresentados valores médios em diferentes méis monoflorais.

Incluir Tabela 3

#### 5-HIDROXIMETILFURFURAL (HMF)

O HMF resulta da desidratação de hexoses por aquecimento na presença de proteínas, consistindo de um produto intermediário da reação de *Maillard*, ou por aquecimento em meio ácido resultando na caramelização. Ele pode ocorrer em alimentos que contenham frutose e glicose. A presença de HMF é um indicador de aquecimento, armazenamento inadequado e adulteração com açúcar invertido, sendo verificado somente em pequenas quantidades em méis frescos (Bogdanov *et al.*, 2004; Risner *et al.*, 2006; Amri & Ladjama, 2013). Em geral, o HMF no mel não deve exceder a 40 mg kg<sup>-1</sup> conforme padrão de identidade e qualidade estabelecido por órgãos nacionais e internacionais (MAPA, 2000; União Européia, 2002). A União Européia estabelece as seguintes exceções: 80 mg kg<sup>-1</sup> para mel oriundo de regiões com temperaturas tropicais e 15 mg kg<sup>-1</sup> para méis com baixa atividade enzimática (<8 e >3 unidades de *Schade* ou *Gothe*).

O tratamento térmico do mel é realizado para reduzir a carga microbiana ou para modificar a tendência de cristalização (Truzzi *et al.*, 2012). Contudo, méis de países tropicais podem ter naturalmente um valor mais alto de HMF sem que o mel tenha sido superaquecido ou adulterado, devido a características climáticas peculiares da região dos trópicos (Marchini *et al.*, 2005). Amostras de méis comerciais brasileiros foram armazenadas em refrigeração e à temperatura ambiente, verificando-se que o teor de HMF nas amostras armazenadas à temperatura ambiente foi 44,8 % maior do que as mantidas sob refrigeração (Moura *et al.*, 2011). A aplicação de temperaturas de 30°C até 40°C resultam em menor formação deste composto furânico, sendo sua produção diretamente proporcional ao aumento de temperatura (Tosi *et al.*, 2002; Sanz *et al.*, 2006; Morales *et al.*, 2009). A sua formação nos alimentos depende, além do tipo de açúcar e pH, da atividade de água e do teor médio de cátions divalentes (Ozcan *et al.*, 2006; Rizelio *et al.*, 2012). A importância da determinação de HMF em alimentos é devido a sua toxicidade. Este composto e os seus derivados (5- clorometil e 5- sulfidimetilfurfural) têm sido apontados como responsáveis pelos seguintes efeitos: citotóxico, genotóxico, mutagênico e cancerígeno. Para a determinação de HMF geralmente são utilizados os métodos espectrofotométricos e cromatográficos, sendo o primeiro mais usual (Truzzi *et al.*, 2012). Na Tabela 4, são mostrados valores médios de HMF em diferentes méis monoflorais.

Incluir Tabela 4

#### DIASTASE

Denomina-se por diastase qualquer enzima do grupo das enzimas que catalisa a quebra de amido em dextrinas (polímeros de glicose de massa molecular menor do que o amido), maltose, maltotriose e glicose (Babacan *et al.*, 2002; Sakac & Sak-Bosnar, 2012). A atividade diastásica é um parâmetro de qualidade usado para determinar se o mel foi submetido ou não ao aquecimento (Tosi *et al.*, 2008; Aloisi *et al.*, 2009; Kirs *et al.*, 2011). Hebbar *et al.* (2003) verificaram que períodos de aquecimento de 60 a 90 s de duração em micro-ondas reduziu a atividade diastásica do mel por aproximadamente 50 % do seu valor original. Além disso, parece haver relação entre a sua atividade e a origem botânica do mel (Kadar *et al.*, 2010). Porém, neste caso, é necessário analisar amostras frescas (Bogdanov *et al.*, 2002). Serrano *et al.* (2004) verificaram maior atividade diastásica em amostras de mel de citrus em relação ao de eucalipto. Contudo, a atividade diastásica não pode ser

utilizada como único parâmetro para atestar a origem botânica do produto, sendo necessária a realização de outras análises (ex. análise polínica). A legislação de diversos países usa com critério de mel fresco a atividade diastásica mínima de 8°G na escala de *Gothe* (Pires *et al.*, 2009). Igwe *et al.* (2012) analisaram méis de diferentes regiões da Turquia e verificaram valores de diastase entre 4°G e 10°G, atribuindo valores abaixo de 8°G às condições inadequadas de processamento e armazenamento. Em méis comerciais provenientes de diversas regiões da Arábia Saudita, a atividade diastásica variou de 4°G a 12,5°G, entretanto as amostras foram consideradas adequadas uma vez que neste país a legislação para méis considera valores adequados a partir de 3°G (Al-Khalifa *et al.*, 1999). Oddo *et al.* (2008), analisando méis da Austrália, também encontraram atividade diastásica média de 4°G, porém os teores de HMF foram baixos. Nesse caso, considerou-se que a baixa atividade diastásica seria uma condição natural do mel analisado. Méis brasileiros orgânicos e não orgânicos, analisados por Sereia *et al.* (2011), não apresentaram diferenças quanto a atividade diastásica evidenciando que os pesticidas geralmente utilizados na agricultura não modificam a atividade catalítica dessa enzima na matriz melífera. Na Tabela 5, são mostrados valores médios de atividade diastásica em diferentes méis monoflorais.

Incluir Tabela 5

#### GLICÍDIOS

#### MONOSSACARÍDIOS

Os glicídios são compostos químicos predominantes no mel, sendo representados por mono- e oligossacarídios, com predominância da D-frutose e da D-glicose, as quais representam de 65-85% do total de sólidos solúveis e 70-95% dos glicídios totais. Cerca de 10% da fração glicídica é composta por oligossacarídios (Moreira & De Maria, 2001; Sanz *et al.*, 2004; Rizelio *et al.*, 2012). O teor glicídico na matriz depende da composição do néctar recolhido pelas abelhas, e da atividade da invertase, enzima que catalisa a hidrólise da sacarose liberando frutose e glicose. Um estudo analisou o conteúdo de néctar de diversas espécies de planta verificando a ocorrência de três padrões: néctar com alto teor de sacarose, néctar com quantidades aproximadamente iguais de glicose, frutose e sacarose e néctar com alto teor de glicose e frutose. Sendo assim, é possível concluir que existe uma relação entre os teores destes glicídios no mel e sua origem botânica, consistindo de um parâmetro complementar na identificação da origem botânica do mel. Embora a relação frutose e glicose (F/G) possa ser útil para esta finalidade, ela é um parâmetro pouco específico, já que uma parcela dos monossacarídios advém da ação da invertase (Moreira & De Maria, 2001). Entretanto, quando se usa outras variáveis além dos monossacarídios os resultados são mais consistentes. Um trabalho emblemático foi conduzido por Mateo & Bosch-Reig (1997) que foram capazes de discriminar diferentes tipos de méis monoflorais espanhóis usando variáveis discriminantes, tais quais: a condutividade elétrica, a cor, a umidade, a frutose e a sacarose. Eles alcançaram 95,7 % de confiabilidade na discriminação das seguintes variedades de mel: alecrim (*Rosmarinus officinalis*), gênero citrus, lavanda (*Lavandula latifolia* Med.), girassol (*Helianthus annuus* L.), eucalipto (*Eucalyptus* sp.), urze (*Calluna vulgaris* L.) e melato (*Quercus* spp.). Em suma, os parâmetros supracitados foram eficientes para auxiliar na classificação de méis monoflorais mediante análise multivariada e, portanto, poderiam ser usados juntamente com a análise polínica para classificação inequívoca da origem botânica do mel.

O conteúdo glicídico influencia alguns aspectos do mel como: viscosidade, valor energético e cristalização. A viscosidade atua também como um fator limitante ao crescimento microbiano dificultando a entrada de oxigênio na matriz. O elevado teor glicídico torna o mel um alimento altamente energético e com elevada osmolaridade, caracterizando um meio com elevada pressão osmótica e atividade de água baixa, favorável à vida de prateleira. A predominância de frutose, glicídico altamente solúvel, propicia a forma anidra da glicose e previne e/ou retarda a cristalização, além de influenciar na característica dos cristais. As moléculas de água encontram-se ligadas aos glicídios principalmente por pontes de hidrogênio, na qual cada molécula de glicose encontra-se ligada a 5 moléculas de água (Abramovic *et al.*, 2008; Kuroishi *et al.*, 2012). Sendo assim, quanto maior a relação frutose/glicose no mel, menor será a sua suscetibilidade à cristalização (Lírio *et al.*, 2010; Venir *et al.*, 2010). Outra forma de verificar a tendência de cristalização é através do índice obtido pela relação do conteúdo de glicose (G) em relação ao teor de água (A), onde valores de  $G/A \geq 2,10$  indicam maior tendência de cristalização enquanto valores de até 1,70 indicam menor inclinação (Rodriguez *et al.*, 2004). Porém, uma avaliação individual destes índices não é capaz de caracterizar variedades de méis do ponto de vista qualitativo quanto ao seu potencial de granulação, fato que seria bastante favorável mediante aspectos comerciais e de preferência do consumidor. A aplicação de análise estatística avançada parece ser um método substancial para este tipo de avaliação. Escuredo *et al.* (2014) puderam observar, mediante aplicação de teste de comparação múltipla de *Bonferroni*, correlações de *Spearman* e análise de componentes principais, uma forte correlação entre o tipo de pólen predominante no mel com seus respectivos teores de frutose, glicose e umidade em relação à tendência de cristalização. Em seu estudo, eles verificaram que méis com predominância de pólen de canola (*Brassica napus*), girassol (*Helianthus annuus*) e limão (*Tilia* sp.) são mais suscetíveis à formação de cristais, devido a um elevado teor de ambos: frutose (F), glicose (G) ( $p < 0,01$ ), umidade (U) ( $p < 0,01$ ), sacarose, soma de F + G e razão G/U. Esses valores estão associados a uma baixa relação F / G. Méis monoflorais apresentam tendência natural a formar cristais finos e homogêneos. Quando a cristalização ocorre de maneira inadequada, durante a estocagem, pode levar à formação de um sobrenadante de coloração escura apresentando cristais de diâmetros maiores e irregulares. A separação de fases forma uma fase cristalina no fundo e uma fase líquida superficial, reduzindo a qualidade do produto para o consumidor. A camada superficial contém ainda conteúdo elevado de água, aumentando o risco de degradação por fermentação (Venir *et al.*, 2010; Kuroishi *et al.*, 2012). A relação frutose/glicose menor do que 1 além de favorecer a cristalização, também pode indicar adulteração por adição de açúcar comercial queimado e/ou alteração por crescimento de leveduras osmofílicas, que preferencialmente usam como substrato a frutose. Por outro lado, a presença de D-glicose confere características terapêuticas ao mel ao ser convertido à ácido D- glicônico através da ação da enzima D-glicose oxidase. Este processo enzimático gera como subproduto peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), antes conhecido como inibina, o qual possui atividade antimicrobiana (Moreira & De Maria, 2001).

Os teores de monossacarídeos podem reduzir-se durante a estocagem, devido a reações de transglicosilação que ocorrem em condições de pH ácido, promovendo a formação, principalmente, de dissacarídeos e trissacarídeos. Entretanto, em estudo realizado com méis da Espanha verificou-se que a formação de monossacarídeos a partir da hidrólise de glicídios mais complexos é um processo que predomina sobre a transglicosilação (Cavia *et al.*, 2002). Na Tabela 6 é mostrada a distribuição de

monossacarídeos em algumas variedades de mel.

Incluir Tabela 6

#### OLIGOSSACARÍDIOS

Além dos monossacarídeos, foram identificados di-, tri- e tetrassacarídeos através de cromatografia de partição de alta eficiência e espectrometria de massas, como parte da complexa composição de glicídios no mel. Os principais dissacarídeos encontrados foram a maltose e a sacarose. Porém, na literatura foram descritos outros 12 compostos: trealose, celobiose, laminaribiose, maltulose, nigerose, turanose, kojibiose, trealulose, palatinose, gentiobiose, isomaltose, melibiose. A frutofuranosil-(2-1)-frutose (inulobiose) foi identificada em algumas amostras de méis da Espanha (Ruiz-Matute *et al.*, 2007), porém mais estudos são necessários para averiguar se este oligossacarídeo está presente em outras variedades de méis. Os trissacarídeos já identificados no mel são: rafinose, 1-cestose, erlose, melezitose, teanderose, maltotriose, isomaltotriose e panose (Ruiz-Matute *et al.*, 2007; 2008). Ruiz-Matute *et al.* (2010) caracterizaram tri e tetrassacarídeos em méis da Espanha através do método de cromatografia gasosa de alta eficiência associada à espectrometria de massas. Os oligossacarídeos foram submetidos à derivatização prévia por siliilação com hexametildisilazano, formando derivados trimetilsililoxima. Verificou-se um total de 25 trissacarídeos, dos quais 12 foram identificados inequivocamente (os principais foram: erlose e panose, com valores de 30-1214 mg.100 g<sup>-1</sup> e 17-863 mg.100g<sup>-1</sup>, respectivamente) e 2 detectados pela primeira vez no mel. Quanto aos tetrassacarídeos, foram encontrados 10 compostos, 6 deles derivados da sacarose, em concentrações inferiores a 230 mg 100g<sup>-1</sup>. Nesse grupo, somente a nistose foi identificada de maneira inequívoca. Na Tabela 6 são inclusos valores para alguns oligossacarídeos de méis monoflorais Brasileiros e estrangeiros.

Incluir Tabela 6

A presença destes compostos deve-se principalmente a reações de *trans*-D-glicosilação. Neste processo, grupos D-glicopiranosila ou D-frutofuranosila são transferidos para uma molécula receptora que pode ser um mono, oligo ou polissacarídeo. Essas reações seriam catalisadas pelas mesmas enzimas envolvidas em reações de hidrólise de glicídios, no caso do mel a invertase (Moreira & De Maria, 2001). A figura 2 apresenta um exemplo de reação de transglicosilação.

Incluir Figura 2

Alguns estudos têm buscado a utilização do perfil de oligossacarídeos na determinação da origem floral e/ou geográfica do mel como alternativa à análise polínica, dada as suas limitações, tais como: baixa ou alta representatividade dos grãos de pólen de algumas plantas, a qual dificulta a determinação do gênero e da espécie. Os di- e trissacarídeos são geralmente analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) enquanto outros oligossacarídeos são detectados por cromatografia gasosa (CG). A análise estatística multivariada tem sido aplicada para investigar se o perfil destes compostos pode realmente ser útil como marcadores de identificação (Swallow & Low, 1990; Goodall *et al.*, 1995; Cotte *et al.*, 2004; Nozal *et al.*, 2005; De La Fuente *et al.*, 2007, 2011; Consonni *et al.*, 2013; Ruiz-Matute, 2013). O teor de maltose juntamente com o de outros oligossacarídeos também foi capaz de classificar o mel quanto à origem geográfica (Senyuva *et al.*, 2009; Ozbalci *et al.*, 2013). Portanto, o perfil de oligossacarídeos é uma ferramenta complementar para tipificar tanto a origem botânica como também a origem geográfica de méis monoflorais Os oligossacarídeos como a nigerose, a turanose, e a maltotriose foram apontados como os principais glicídios com potencial para discriminar amostras de méis monoflorais do Brasil (Da Costa Leite *et al.*, 2000). Também foi proposto neste



estudo que este tipo de caracterização poderia ser útil inclusive para os consumidores que estivessem interessados em consumir apenas méis de regiões com legislações mais rigorosas em relação à utilização de agrotóxicos bem como ao cultivo de plantas transgênicas. Entretanto, os resultados não foram conclusivos, já que nesse trabalho não foi usado tratamento estatístico apropriado que pudesse discriminar as amostras pelo perfil de oligossacarídeos. Os resultados obtidos com méis estrangeiros foram mais abrangentes. Nozal *et al.* (2005), usando análise de componentes principais, conseguiram classificar méis de diferentes origens botânicas, com mais de 90% de acurácia. Os oligossacarídeos analisados com maior potencial discriminante foram: erlose, nigerose, trealose, melezitose, isomaltose e panose. Em estudo mais recente, ao analisar-se amostras de méis espanhóis de 6 origens botânicas diferentes, constatou-se que a sacarose seria característica de méis do gênero *Citrus*; a rafinose e a 1-cestose do mel de urze (*Calluna vulgaris* L.); a teanderose e a panose do mel de alecrim (*Rosmarinus officinalis*); e a 6-cestose de mel de rosas (*Rosaceae*) (De La Fuente *et al.*, 2011). Nos méis espanhóis de urze foram quantificados 3,9 g de melezitose em cada 100 g amostra, apontando para uma possível contaminação com melato (*Quercus* spp.), já que este trissacarídeo não é relevante em méis florais, mas é típico do mel de melato (Doner, 1977; Mateo & Bosch-Reig, 1997; Da Costa Leite *et al.*, 2000; Bogdanov & Baumann, 1988).

Na Tabela 6 é mostrada a distribuição quantitativa dos glicídios em méis monoflorais. Como pode ser observado, os estudos que analisam o perfil de oligossacarídeos no mel são escassos na literatura. São necessárias análises subsequentes destes glicídios em méis monoflorais, uma vez que há evidências cada vez mais consistentes de que esses componentes sejam parâmetros importantes para a classificação geográfica e botânica do mel, podendo, portanto, futuramente integrar critérios oficiais usados na determinação da qualidade do mel. Além disso, o consumo de mel apresenta uma série de efeitos fisiológicos relacionados à composição glicídica conforme descrito por diferentes autores (Bogdanov *et al.*, 2008; Munstedt *et al.*, 2011; Erejwua *et al.*, 2012a, 2012b, 2012c). Segundo esses trabalhos, o efeito antidiabético pode ser atribuído à presença de frutose, a qual retarda ambos o esvaziamento gástrico, a absorção de glicose e, portanto, prolonga a saciedade, além de reduzir o índice glicêmico. Esses efeitos também podem estar relacionados à presença de oligossacarídeos que representam de 5 % a 10 % dos sólidos totais do mel. Além disso, essa matriz apresenta grande variedade de fruto-oligossacarídeos, os quais parecem induzir um efeito prebiótico, visto que há um recrudescimento de alguns gêneros na microbiota intestinal, tais quais: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*. Os autores dessa revisão formulam a hipótese que a complexidade do perfil de oligossacarídeos no mel poderia ter um efeito benéfico no estímulo da secreção de incretinas (por exemplo: GLP-1), as quais estimulam a secreção de insulina. Entretanto, essa é uma hipótese meramente especulativa que carece de trabalhos investigativos.

Sendo o mel um alimento de custo relativamente alto, têm sido realizadas adições de produtos glicídicos de baixo custo, tais como: melaço, caramelo; xaropes de açúcar de milho, açúcar da cana de açúcar e da beterraba, os quais são invertidos por ácidos e enzimas, bem como xaropes de milho ou seus derivados ricos em frutose obtidos por isomerização. Há um crescente interesse em se encontrar um método simples e econômico para a detecção de fraudes e adulterações no mel. A adição de xarope de milho com elevado teor de frutose tem gerado preocupação, pois é difícil de ser detectada pelos métodos analíticos

convencionais (Chen *et al.*, 2011; Ruiz-Matute *et al.*, 2007; Ruiz-Matute, 2013). Estudos têm buscado detectar este tipo de adulteração através da análise de oligossacarídeos, pois geralmente estes xaropes contêm vestígios de fruto-oligossacarídeos, de maior massa molecular, que não são característicos do mel. Contudo, esse método não foi validado para esta finalidade devido às alterações constantes na composição dos xaropes utilizados, independente do tipo, tornando difícil a detecção da adulteração. Para tal, a determinação dos glicídios deve ser constantemente atualizada para que seja possível detectar a composição real dos fruto-oligossacarídeos dos xaropes de milho e assim confrontar com o perfil encontrado nas amostras do mel genuíno. Além disso, a própria composição do mel é bastante variável conforme a origem botânica e/ou geográfica. (Bogdanov *et al.*, 2002; Ruiz-Matute *et al.*, 2007; Ruiz-Matute, 2013).

#### CONCLUSÃO

A análise da composição química do mel fornece informações cruciais para a avaliação da sua qualidade, bem como para atestar a autenticidade do produto. Os parâmetros umidade e acidez denotam a qualidade do processamento do produto e o risco de crescimento de micro-organismos. A determinação do teor de HMF juntamente com a atividade diastásica indica se houve, especificamente, superaquecimento durante o processamento. A prolina indica o grau de amadurecimento do mel e pode também, em certos casos, e correlacionar-se bem com a atividade de outras enzimas. Alguns destes parâmetros, por exemplo, a acidez e umidade, juntamente com o perfil de monossacarídeos e sacarose, podem funcionar como ferramenta auxiliar na determinação da origem botânica do mel. Embora o mel seja uma solução concentrada de frutose e glicose, ele apresenta um perfil complexo de compostos minoritários. Mais de uma dezena de di-, tri-, tetra- e pentassacarídeos foram identificados no mel. O perfil desses compostos é muito útil na identificação complementar da origem botânica e geográfica do mel monofloral, sobretudo quando se trata os resultados com análise multivariada. Por outro lado, a presença de fruto-oligossacarídeos tem grande potencial para indicar a fraude do mel com produtos a base de xarope de milho. Outros compostos minoritários não discutidos aqui serão tratados em um próximo trabalho.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABADIO FINCO, F. D. B.; MOURA, L. L.; SILVA, I. G. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol. 30, n. 3, p. 706-712, 2010.
- ABRAMOVIC, H. et al. Water activity and water content in Slovenian honeys. **Food Control**, vol. 19, p. 1086–1090, 2008.
- AJLOUNI, S.; SUJIRAPINYOKUL, P. Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. **Food Chemistry**, vol. 119, p. 1000-1005, 2009.
- AL-KHALIFA, A.S.; AL-ARIFY, I. A. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. **Food Chemistry**, vol. 67, p. 21-25, 1999.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. et al. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, vol. 48, p. 1698–1706, 2013.
- ALOISI, P. V. Determination of quality chemical parameters of honey from chubut (argentinean patagonia). **Chilean Journal of Agricultural Research**, vol. 70, n. 4, p. 640-645, 2010.
- ALQARNI *et al.*, Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. **Arabian Journal of Chemistry**, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535212002699>> Acesso em: 11 de janeiro de 2013.
- ALVAREZ, L. M. **Honey Proteins and their Interaction with Polyphenols**. 2011. 93f.. Thesis (Master of Science) – Faculty of Mathematic and Sciences, Brock University, 2011.
- ALVES, E. M. et al. Características físico-químicas de mel orgânico de abelhas africanizadas produzido nas ilhas do Rio Paraná. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 31, n. 3, p. 635-639, 2011.
- AMRI, A.; LADJAMA, A. Physicochemical characterization of some multifloral honeys from honeybees *Apis mellifera* collected in the Algerian northeast. **African Journal of Food Science**, vol.7, n. 7, p. 168-173, 2013.
- AZEREDO, L. C. et al. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. **Food Chemistry**, vol. 80, p. 249-254, 2003.
- BABACAN, S.; PIVARNIK, L.F; RAND, A.G. Honey Amylase Activity and Food Starch Degradation. **Journal of Food Science**, vol. 67, n. 5, p. 1625-1630, 2002.
- BELAY, A. et al. Physicochemical properties of the Hareenna forest honey, Bale, Ethiopia. **Food Chemistry**, vol. 141, p. 3386–3392, 2013.

- BENDINI, J. N.; SOUZA, D. C. Caracterização físico-química do mel de abelhas proveniente da florada do cajueiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, vol. 38, n. 2, p. 565-567, 2008.
- BOGDANOV, S. et al. Honey for Nutrition and Health: A Review. **Journal of the American College of Nutrition**, vol. 27, n. 6, p. 677–689, 2008.
- BOGDANOV, S., MARTIN, P. Honey authenticity: a Review. **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, vol. 93, p. 232-254, 2002.
- BOGDANOV, S. et al. Honey quality and international regulatory standards. Review of the work of the International Honey Commission. **Mitt. Lebensm. Hyg.**, vol. 90, p. 108-125, 1999.
- BOGDANOV, S.; BAUMANN, E. Determination of sugar composition of honeys by HPLC. **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, vol. 79, p. 198–206, 1988.
- BOGDANOV, S; RUOFF, K; PERSANO ODDO, L. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. **Apidologie**, vol. 35, p. S4-S17, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Diário Oficial da União**, nº 179, quinta-feira, 23 de outubro de 2000.
- CAVIA, M. M. et al. Evolution of fructose and glucose in honey over one year: influence of induced granulation. **Food Chemistry**, vol. 78, p. 157–161, 2002.
- CHEN, L. et al. Determination of Chinese honey adulterated with high fructose corn syrup by near infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, vol. 128, p.1110–1114, 2011.
- CONSONNI, R.; CAGLIANI, L.R.; COGLIATI, C. Geographical discrimination of honeys by saccharides analysis. **Food Control**, vol. 32,n. 2, p. 543-548, 2013.
- CORBELLA, E.; COZZOLINO, D. Classification of the floral origin of Uruguayan honeys by chemical and physical characteristics combined with chemometrics. **LWT**, vol. 39, p. 534–539, 2006.
- CORTOPASSI-LAURINO, M.; GELLI, D. S. Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de *Méliponés* du Brésil. **Apidologie**, vol. 22, p. 61-73, 1991.
- COSTA, L. S. M. et al. Determination of non-volatile compounds of different botanical origin Brazilian honeys. **Food Chemistry**, vol. 65, p. 347- 352, 1999.
- COTTE, J. F. et al. Chromatographic analysis of sugars applied to the characterization of monofloral honey. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, vol. 380, p. 698–705, 2004.

DA COSTA LEITE, J. M. et al. Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin. **Food Chemistry**, vol. 70, n. 1, p. 93–98, 2000.

DE LA FUENTE, E. et al. Carbohydrate composition of Spanish unifloral honeys. **Food Chemistry**, vol. 129, n. 4., p. 1483–1489, 2011.

DE LA FUENTE, E., et al. Volatile and carbohydrate composition of rare unifloral honeys from Spain. **Food Chemistry**, vol.105, p. 84–93, 2007.

DONER, L. W. The sugars of honey - A review. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 28, n. 5, p. 443-456, 1977.

EMBRAPA. **Sistemas de produção.** Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/historico.htm>.

Acesso em: 10 jan. 2013.

EREJUWA, O. O.; SULAIMAN, S. A.; AB WAHAB, M. S. A. Fructose Might Contribute to the Hypoglycemic Effect of Honey. **Molecules**, vol. 17, p. 1900-1915, 2012c.

EREJUWA, O. O.; SULAIMAN, S. A.; AB WAHAB, M. S. A. Honey - A Novel Antidiabetic Agent. **International Journal of Biological Sciences**, vol. 8, n. 6, p. 913-934, 2012b.

EREJUWA, O. O.; SULAIMAN, S. A.; AB WAHAB, M. S. A. Honey: A Novel Antioxidant. **Molecules**, vol. 17, p. 4400-4423, 2012a.

ESCUREDO, O. et al. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. **Food Chemistry**, vol.149, p. 84–90, 2014.

EUROPEAN COMMISSION (EU). Council Directive 2001/110/EC, relating to honey, 20 of December 2001. **Official Journal of the European Communities**, p. 47-52, 12 of January 2002.

FÉAS, X. et al. Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. **Food and Chemical Toxicology**, vol. 45, p. 3462–3470, 2010.

FILHO, J. P. A. et al. Estudo físico-químico e de qualidade do mel de abelha comercializado no município de pombal – PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, vol. 6, n. 3, p. 83-99, 2011.

GOMES, S. et al. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. 2010. Disponível em: [http://www.researchgate.net/publication/38085931\\_Physicochemical\\_microbiological\\_and](http://www.researchgate.net/publication/38085931_Physicochemical_microbiological_and)

antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal> Acesso em: 4 de janeiro de 2013.

GOODALL, I. et al. Contribution of high-performance liquid chromatographic analysis of carbohydrates to authenticity testing of honey. **Journal of Chromatography A.**, vol. 706, n. 1-2, p. 353–359, 1995.

HEBBAR, H. U. et al. Microwave and Infrared Heat Processing of Honey and Its Quality. **Food Science and Technology Research**, vol. 9, n. 1, p. 49–53, 2003.

HOSNY, I. M.; ABDEL EL-GHANI, S.; NADIR, A. S.; Nutrient Composition and Microbiological Quality of Three Unifloral Honeys with Emphasis on Processing of Honey Probiotic Youghurt. **Global Veterinaria**, vol. 3, n. 2, p. 107-112, 2009.

IGLESIAS, A. et al. Comprehensive Study of Honey with Protected Denomination of Origin and Contribution to the Enhancement of Legal Specifications. **Molecules**, vol. 17, p. 8561-8577, 2012.

IGWE, E. C. ; DANDAGO, M. A.; BINGA, E. N. Assessment of quality attributes of natural honey from Adamawa State North Eastern, Nigeria. **African Journal of Food Science**, Nigéria, vol. 6, n. 18, p. 449-455, set. 2012.

IGWE, E. C.; DANDAGO, M. A.; BINGA, E. N. Assessment of quality attributes of natural honey from Adamawa State North Eastern, Nigeria. **African Journal of Food Science**, vol. 6, n. 18, p. 449-455, 2012.

ISLAM, A. et al. Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, vol. 12, 2012. Disponível em: < <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/12/177>>. Acesso em: 4 de janeiro de 2013.

JAGDISH, T., & JOSEPH, I. Quantification of saccharides in multiple floral honeys using Fourier transform infrared microattenuated total reflectance spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 52, p. 3237–3243, 2004.

JANISZEWSKA, K.; ANIOŁOWSKA, M.; NOWAKOWSKI, P. Free Amino Acids Content of Honeys from Poland. **Polish Journal Food and Nutrition Science**, vol. 62, n. 2, p. 85-89, 2012.

KADAR, M. et al. Differentiation of Acacia, Sunflower and Tilia Honeys from Different Countries Based on Sugar Composition, Physicochemical and Color Parameters. **Bulletin USAMV Agriculture**, vol. 67, n. 2, p. 252-258, 2010.

KAHRAMAN, T. et al. Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. **Food Chemistry**, vol. 123, p. 41–44, 2010.

KASPEROVÁ, J. et al. Physico-chemical indicators and identification of selected Slovak honeys based on colour measurement. **Acta Veterinaria**, vol. 81, p. 57-61, 2012.

KHALIL, I. et al. Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. **Molecules**, vol. 17, p. 11199-11215, 2012.

KIRS, E. et al. Physicochemical and melissopalynological characterization of Estonian summer honeys. **Procedia Food Science**, vol. 1, p. 616 – 624, 2011.

KIRS, E. et al. Physicochemical and melissopalynological characterization of Estonian summer honeys. **Procedia Food Science**, vol. 1, p. 616 – 624, 2011.

KUROISHI, A. M. et al. Evaluation of honey crystallization from the colour and water activity parameters. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 84-91, 2012.

KUROISHI, A. M. et al. Avaliação da cristalização de mel utilizando parâmetros de cor e atividade de água. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 84-91, 2012.

LÍRIO, F. C. **Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de méis florais irradiados**. 2010. 154 f.. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2010.

MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C.; OTSUK, I. P. Análise de agrupamento, com base na composição físico-química, de amostras de méis produzidos por *apis mellifera* no Estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 25, n. 1, p. 8-17, 2005.

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

MEDA, A. et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, vol. 91, p. 571-577.

MOHAMMED, S. E. A. R.; BABIKER, E. E. Identification of the Floral Origin of Honey by Amino Acids Composition. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, vol. 4, n. 4, p. 552-556, 2010.

- MOHAMMED, S. E.; KAMRAN AZIM, M. Characterisation of natural honey proteins: implications for the floral and geographical origin of honey. **International Journal of Food Science and Technology**, vol. 47, p. 362–368, 2012.
- MORALES, V. et al. Combined use of HMF and furosine to assess fresh honey quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 89, p. 1332–1338, 2009.
- MOREIRA, R. F. A. et al. Chemical changes in the volatile fractions of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, vol. 121, n. 3, p. 697–704, 2010
- MOREIRA, R. F. A. et al. Chemical changes in the non-volatile fraction of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, vol. 104, vol. 3, p. 1236–1241, 2007.
- MOREIRA, R. F.; DE MARIA, C. A. B. Glicídios no mel. **Química Nova**, vol. 24, n. 4, p. 516-525, 2001.
- MOURA, S. G. et al. Hidroximetilfurfural em méis de *Apis melifera* Linnaeus (Apoidea: Apidae) armazenados à temperatura ambiente e sob refrigeração, Piauí – Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, n.4, p.1077-1083, 2011.
- MUNSTEDT, K. et al. Consumption of rapeseed honey leads to higher serum fructose levels compared with analogue glucose/fructose solutions. **European Journal of Critical Nutrition**, vol. 65, p. 77-80, 2011.
- NAAB, O. A.; TAMAME, M. A.; CACCAVARI, M. A. Palynological and physicochemical characteristics of three unifloral honey types from central Argentina. **Spanish Journal of Agricultural Research**, vol. 6, n. 4, p. 566-576, 2008.
- National Honey Board, Honey Varietals, 2010. Disponível em: <<http://www.honey.com/>>. Acesso em: 2 de abril de 2013.
- NIGUSSIE, K.; SUBRAMANIAN, P.A.; MEBRAHTU, G. Physicochemical analysis of tigray honey: an attempt to determine major quality markers of honey. **Chemical Society of Ethiopia**, vol. 26, n. 1, p. 127-133, 2012.
- NOZAL, M. J. et al., Rapid and sensitive method for determining free amino acids in honey by gas chromatography with flame ionization or mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, vol. 1047, p. 137–146 2004.
- ODDO, L. P. et al. Composition and Antioxidant Activity of *Trigona carbonaria* Honey from Australia. **Journal of Medicinal Food**, vol. 11, n. 4, p. 789–794, 2008.

OUCHEMOUKH, S.; LOUAILECHE, H.; SCHWEITZER, P.; Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. **Food Control**, vol. 18, p. 52 – 58, 2007.

OZBALCI, B. et al. Rapid analysis of sugars in honey by processing Raman spectrum using chemometric methods and artificial neural networks. **Food Chemistry**, vol. 136 p. 1444–1452, 2013.

OZCAN, M.; ARSLAN, D.; CEYLAN, D. A. Effect of inverted saccharose on some properties of honey. **Food Chemistry**, vol. 99, p. 24–29, 2006.

PASINI, F. et al. Buckwheat honeys: Screening of composition and properties. **Food Chemistry**, vol. 141, p. 2802–2811, 2013.

PIRES, J. et al. Pollen spectrum and physico-chemical attributes of heather (*Ericasp.*) honeys of north Portugal. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 89, p. 1862–1870, 2009.

PONTARA, L. P. M. et al. Caracterização físico-química e microbiológica de amostras de mel de flores de mandioca produzido por abelhas africanizadas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 32, n. 3, p. 547-552, 2012.

RISNER, C. H. et al. An Aqueous High-Performance Liquid Chromatographic Procedure for the Determination of 5-Hydroxymethylfurfural in Honey and Other Sugar-containing Materials. **Journal of Food Science**, vol. 71, n. 3, 2006;

RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast capillary electrophoresis method for determination of carbohydrates in honey samples. **Talanta**, vol. 93, p. 62–66, 2012.

RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast MECK method for determination of 5-HMF in honey samples. **Food Chemistry**, vol. 133, p. 1640–1645, 2012.

RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast MECK method for determination of 5-HMF in honey samples. **Food Chemistry**, vol. 133, p. 1640–1645, 2012.

RODRIGUEZ, B. A. et al. Quality Parameters and Antioxidant and Antibacterial Properties of Some Mexican Honeys. **Journal of Food Science**, vol. 71, n. 1, p. 121-127, 2012.

RODRIGUEZ, G. O. et al. Characterization of honey produced in Venezuela. **Food Chemistry**, vol. 84, p. 499–502, 2004.

RUIZ-MATUTE, A. I. et al. A New Methodology Based on GC–MS to Detect Honey Adulteration with Commercial Syrups. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 55, p. 7264–7269, 2007.

RUIZ-MATUTE, A. I. et al. Fractionation of Honey Carbohydrates Using Pressurized Liquid Extraction with Activated Charcoal. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, vol. 56, p. 8309–8313, 2008.

RUIZ-MATUTE, A. I. et al. Gas chromatographic–mass spectrometric characterization of tri- and tetrasaccharides in honey. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, vol. 120, p. 637-642, 2010.

RUIZ-MATUTE, A. I.; SANZ, M. L.; MARTINEZ-CASTRO, I. Use of gas chromatography–mass spectrometry for identification of a new disaccharide in honey. **Journal of Chromatography A**, vol. 1157, p. 480–483, 2007.

RUIZ-MATUTE, A. I.; SANZ, M. L.; SORIA, A. C. **Food Authentication using Bioorganic Molecules**. Pennsylvania: Destech Publications, 2013, 413 p.

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

SALONEN, A.; JULKUNEN-TIITTO, R. Characterisation of two unique unifloral honeys from the boreal coniferous zone: lingonberry and mire honeys. **Agricultural and Food Science**, vol. 21, p. 159-170, 2012.

SANCHEZ, V. et al. Comparison between Karl Fischer and refractometric method for determination of moisture in honey. **Food Control**, vol. 21, p. 339-341, 2010.

SANZ, M. L. et al. 2-Furoylmethyl Amino Acids and Hydroxymethylfurfural As Indicators of Honey Quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 51, p. 4278–4283, 2006.

SANZ, M. L.; SANZ, J.; MARTINEZ-CASTRO, I. Gas chromatographic–mass spectrometric method for the qualitative and quantitative determination of disaccharides and trisaccharides in honey. **Journal of Chromatography A**, vol. 1059, p. 143–148 2004.

SENYUVA, H. Z. et al. Profiling Turkish Honeys to Determine Authenticity Using Physical and Chemical Characteristics. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, vol. 57, n. 9, p. 3911-3919, 2009.

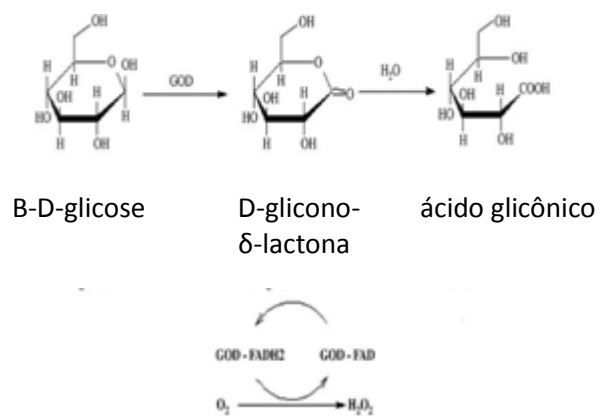
SEREIA, M. J. et al. Physicochemical characteristics and pollen spectra of organic and non-organic honey samples of *Apis mellifera* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 83, n. 3, p. 1077-1090, 2011.

SERRANO, S. et al. Chemical and physical parameters of Andalusian honey: classification of Citrus and Eucalyptus honeys by discriminant analysis. **Food Chemistry**, vol. 87, p. 619–625, 2004.

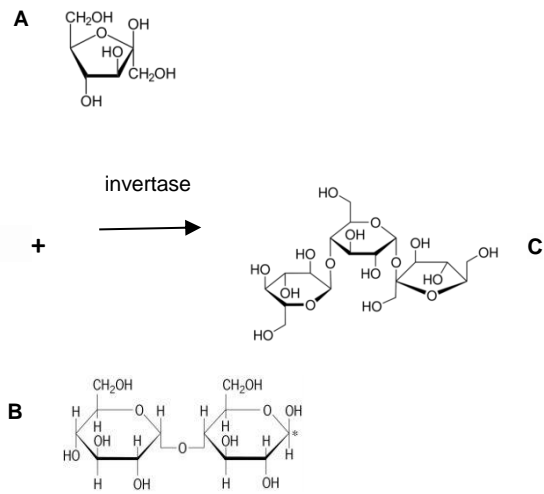
SGARIGLIA, M. A. et al. Properties of honey from *Tetragonisca angustula fiebrigi* and *Plebeia wittmanni* of Argentina. **Apidologie**, vol. 41, p. 667-675, 2010.



- SUARÉZ-LUQUE, S. et al. Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, vol. 955, p. 207–214, 2002.
- SWALLOW, K. W.; LOW, N. H. Analysis and quantitation of the carbohydrates in honey using high-performance liquid chromatography. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 38, n. 9, p. 1828–1832, 1990.
- TOSI, E. et al. Honey diastase activity modified by heating. **Food Chemistry**, vol. 106 p. 883–887, 2008.
- TOSI, E. et al. Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content **Food Chemistry**, vol. 77, p. 71–74, 2002.
- TRUZZI, C. et al. Determination of Very Low Levels of 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) in Natural Honey: Comparison Between the HPLC Technique and the Spectrophotometric White Method. **Journal of Food Science**, vol. 77, n. 7, p. C784-C790, 2012.
- VARGAS, T.; **Avaliação da qualidade do mel produzido na região dos Campos Gerais do Paraná**. 2006. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná, 2006.
- VENIR, E.; SPAZIANI, M.; MALTINI, E. Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. **Food Chemistry**, vol. 122, p. 410–415, 2010.
- VIT, P. et al. Expanded parameters to assess the quality of honey from Venezuelan bees (*Apis mellifera*). **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**, vol. 1, n. 3, p. 72 -81, 2009.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Codex Alimentarius. **Food Hygiene Basic Texts**, Rome, 2004.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Food and Agricultural Organization of the United Nations. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/345/default.aspx>> . Acesso em: 10 jan. 2013.



**Figura 1.** Conversão enzimática da D-glicose em ácido glicônico. GOD - glutamato oxaloacetato desaminase; FAD – flavina adenina dinucleotídio.



**Figura 2.** Reação de transglicosilação catalisada pela invertase ( $A + B \longrightarrow C$ ).

**A-** (β-D-frutofuranose), (frutose);

**B-** α-glicopiranosil-(1→4)-α-D-glicopiranosose, (maltose);

**C-** (α-D-glicopiranosil-(1→4)-α-D-glicopiranosil-(1→2)-β-D-frutofuranose), (α- maltosyl β-frutofuranose), (erlose).

**Tabela 3. Teor de umidade em méis monoflorais.**

Tipo de mel	Origem botânica	Origem geográfica	Umidade (Média±DP em %)	Referência
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Brasil	18,8±1,1	Costa <i>et al.</i> (1999)
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> sp.		17,5±0,5	
Mel de morrão de candeia	<i>Croton</i> sp.		18,5±0,4	Matos <i>et al.</i> (2002)
Mel de assa-peixe	<i>Vernonia</i> sp.		17,9±0,4	
Mel de marmeleiro	<i>Croton</i> sp.		23,6±0,4	Moreira <i>et al.</i> (2002)
Mel de flor de cajueiro	<i>Anacardium occidentale</i> L		18,4±0,6	Bendini & Souza (2008)
Mel de flor de mandioca	<i>Manihot esculenta</i> Crantz		18,1±0,01	Pontara <i>et al.</i> (2012)
Mel de “pusquillo”	<i>Plebeia wittmanni</i>	Argentina	12,3±1,7	Sgariglia <i>et al.</i> (2010)
Mel de “piquillín”	<i>Condalia microphylla</i> Cav		15,8±0,7	Naab <i>et al.</i> (2012)
Mel de “abrepuno amarillo”	<i>Centaurea solstitialis</i> L.		17,4±0,9	
	<i>Prosopis</i> spp		15,4±1,1	
Mel de “angelito”	<i>Tetragonisca angustula fiebrigi</i>	Eslováquia	17,0 ±1,8	Kasperová <i>et al.</i> (2012)
Mel de acácia	<i>Acácia</i> spp		17,8±1,1	Salonen & Julkunen-Tiitto (2012)
Mel de “lingonberry”	<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	Finlândia	16,6±0,5	Salonen & Julkunen-Tiitto (2012)
Mel de “mire”	<i>Rubus chamaemorus</i> , <i>Menyanthes trifoliata</i>		16,6±0,3	
Mel de trigo sarraceno	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Itália	17,2±0,7	Pasini <i>et al.</i> (2013)
Mel de alfarrobeira	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Itália	19,8±1,6	Ferrauto & Pavoni (2013)

DP = desvio padrão

**Tabela 4. Valores de acidez total e pH em méis monoflorais.**

Tipo de mel	Origem botânica	Origem geográfica	pH	Acidez total (meq kg <sup>-1</sup> ) (Média±DP)	Referência
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Brasil	-	22,8±5,9	Costa <i>et al.</i> (1999)
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> sp.		-	13,7±3,5	
Mel de morrão de candeia	<i>Croton</i> sp.		3,4±0,21	30,0±0,96	Matos <i>et al.</i> (2002)
Mel de assa-peixe	<i>Vernonia</i> sp.		3,2±0,06	27,0±2,1	
Mel de marmeleiro	<i>Croton</i> sp.		3,7±0,06	30,3±1,1	Moreira <i>et al.</i> (2002)
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.		3,6 ± 0,43	33,8±11,6	Marchini <i>et al.</i> (2007)
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> sp.		3,2 ± 0,4	21,7±7,3	
Mel de flor de cajueiro	<i>Anacardium occidentale</i> L		3,7± 0,09	30,2±4,5	Bendini & Souza (2008)
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp		3,7± 0,4	-	(2008)
Mel de flor de mandioca	<i>Manihot esculenta</i> Crantz		4,1 ± 0,01	49,9±0,20	
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> sp.	Uruguai	3,2± 0,16	-	Corbella <i>et al.</i> (2006)
Mel de “piquillín”	<i>Condalia microphylla</i> Cav	Argentina	4,7 ± 0,16	25,7±4,5	Naab <i>et al.</i> (2012)
Mel de “abrepuño amarillo”	<i>Centaurea solstitialis</i> L.		3,6 ± 0,23	21,4±4,9	
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> spp.	Arábia Saudita	3,3*	21,5*	Alqarni <i>et al.</i> (2012)
Mel de cravo	<i>Trifolium alexnadrinum</i>		3,23*	20,5*	
Mel de algodão	<i>Gossypium barbadense</i>		3,21*	58,5*	
Mel de trigo sarraceno	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Itália	4,2± 0,4	30±9,6	Pasini <i>et al.</i> (2013)
Mel de alfarrobeira	<i>Ceratonia siliqua</i> L.		4,0± 0,34	30,5±6,42	Ferrauto & Pavone (2013)

DP = desvio padrão. \*Não há informação sobre o DP.

**Tabela 3. Valores de prolina em méis monoflorais.**

Tipo de mel	Origem botânica	Origem geográfica	Prolina (mg kg <sup>-1</sup> ) (Média±DP)	Referência
Mel de flor de sino	<i>Campanula persicifolia</i>	México	441,3 ± 29,1	Rodriguez <i>et al.</i> (2012)
Mel de cacto	<i>Opuntia ficus-indica</i>		439,3± 8,9	
Mel de laranjeira	<i>Citrus sinensis</i>		307,7± 4,4	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus globulus labill</i>		387,4± 3,7	
Mel de “caujiniquil”	<i>Inca punctata</i> (Willd)		569,4± 2,4	
Mel de acácia	<i>Robinia pseudoacacia L.</i>	Polônia	225,7±43,9	Janiszewska <i>et al.</i>
Mel de framboesa	<i>Rubus ideaus L.</i>		189,1±104,0	(2012)
Mel de trigo sarraceno	<i>Fagopyrum esculentum M.</i>		227,8±78,3	
Mel de urze	<i>Calluna vulgaris L.</i>		284,1±135,6	
Mel de laranjeira	<i>Citrus sinensis</i>	Espanha	185,4 ±126,5	Serrano <i>et al.</i> (2004)
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus globulus labill</i>		429,5± 285,0	
Mel de caju	<i>Anacardium occidentale</i>	Brasil	1402,6± 68,2	Moreira <i>et al.</i> (2002)
Mel de marmeleiro	<i>Croton sp</i>		455,9±21,8	
Mel de eucalipto	<i>Eucaliptus sp.</i>		291,3±108,8	Costa <i>et al.</i> (1999)
Mel de laranjeira	<i>Citrus sp.</i>		340,2±311,9	
Mel de morrão de candeia	<i>Croton sp.</i>		709,7±57,5	Matos <i>et al.</i> (2002)
Mel de assa-peixe	<i>Vernonia sp.</i>		686,7±52,1	

DP = desvio padrão.

**Tabela 4. Valores de HMF em méis monoflorais.**

Tipo de mel	Origem botânica	Origem geográfica	HMF (mg kg <sup>-1</sup> ) (Média±DP)	Referência
Mel laranjeira	<i>Citrus sinensis</i>	Itália	11,8*	Fallico <i>et al.</i> (2008)
Mel de castanha	<i>Castanea sativa</i>		0,8*	
Mel de marmeleiro	<i>Croton sonderianus</i> Müll. Arg	Brasil	0,3*	Silva <i>et al.</i> (2004)
Mel de jitirana	<i>Hyptis suaveolens</i>		9,0*	
Mel de camaratuba	<i>Cratylia mollis</i> Mart. ex Benth		1,4*	
Mel de angico de bezerro			3,4*	
Mel de caju	<i>Piptadenia moniliformis</i>		7,4 ± 0,3	Moreira <i>et al.</i> (2002)
Mel de marmeleiro	<i>Anacardiaceae</i> sp.		2,8 ± 0,2	Costa <i>et al.</i> (1999)
Mel de eucalipto	<i>Croton</i> sp.		5,2±4,1	
Mel de laranjeira	<i>Eucaliptus</i> sp.		7,7±7,5	Matos <i>et al.</i> (2002)
Mel de morrão de candeia	<i>Citrus</i> sp.		5,2±0,82	
Mel de assa-peixe	<i>Croton</i> sp. <i>Vernonia</i> sp.		3,1±0,61	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> spp.	Espanha	10,9 ± 7,2	Serrano <i>et al.</i> (2004)
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> spp.		16,5 ± 16,5	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> spp.	Uruguai	13,4 ± 8,6	Corbella <i>et al.</i> (2006)
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> spp.		8,6 ± 3,8	
Mel de Pinha	<i>Pinus sylvestris</i>	Turquia	8,9*	Simsek <i>et al.</i> (2012)
Mel de Castanha	<i>Castanea Sativa</i>		23,8*	
Mel de lima	<i>Tilia</i> sp.	Polônia	33,8*	Kowalski <i>et al.</i> (2013)
Mel de acácia	<i>Robinia pseudoacacia</i>		22,4*	
Mel de trigo mourisco	<i>Fagopyrum</i> sp.		53,8*	

DP = desvio padrão. \*Não há informação sobre o DP.

**Tabela 5. Atividade diastásica em méis monoflorais.**

Tipo de mel	Origem botânica	Origem geográfica	Diastase (Média±DP)	Referência
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Algéria	15,9 ± 6,9	Makhloufi <i>et al.</i> (2010)
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> sp.		8,0 ± 1,4	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Marrocos	40,5±39,0	Terrab <i>et al.</i> (2002)
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> sp.		40,2±89,2	
Mel de salgueirinha	<i>Lythrum</i> sp.		34,7±24,9	
Mel de acácia	<i>Robinia pseudoacacia</i>	Espanha	12,7*	Kadar <i>et al.</i> (2010)
Mel de Tília	<i>Tilia</i> sp.		15,8*	
Mel de eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Brasil	13,3±4,5	Costa <i>et al.</i> (1999)
Mel de laranjeira	<i>Citrus</i> sp.		7,8±0,76	Matos <i>et al.</i> (2002)
Mel de morrão de candeia	<i>Croton</i> sp.		14,1±0,90	
Mel de assa-peixe	<i>Vernonia</i> sp.		15,3±3,1	
Mel de caju	<i>Anacardiaceae</i> sp. .		40,0 ± 0,88	Moreira <i>et al.</i> (2002)
Mel de marmeleiro	<i>Croton</i> sp.			
Mel de alfarrobeira	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Itália	19,9± 2,8	Ferrauto & Pavone (2013)

DP = desvio padrão. \*Não há informação sobre o DP.



Tabela 6. Glicídios em méis monoflorais.

Origem botânica	GLIC	FRU	FRU/ GLIC	SAC	MAL	TUR	NIG	MEB	Referências
<i>Rosmarinus officinalis</i> L. <sup>a</sup>	31,20 ±0,44	36,20±0,44	1,17±0,03	1,60±0,50	3,90±0,17	-	-	-	1
<i>Citrus</i> spp. <sup>b</sup>	30,40±0,61	36,80±0,54	1,20±0,02	4,24±0,85	3,45±0,24	-	-	-	
<i>Lavandula latifolia</i> Med. <sup>c</sup>	30,50±0,73	37,40±0,23	1,23±0,02	0,88±0,33	4,40±0,17	-	-	-	
<i>Helianthus annuus</i> L. <sup>d</sup>	35,20±0,39	39,40±0,19	1,12±0,01	0,07±0,01	2,74±0,08	-	-	-	
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh <sup>e</sup> <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. <sup>e</sup>	31,40±0,40	38,70±0,17	1,23±0,02	0,29±0,82	4,81±0,21	-	-	-	
<i>Ericaceae</i> mainly <i>Erica</i> spp. <sup>g</sup>	29,50±0,43	37,40±0,32	1,27±0,02	0,06±0,02	3,60±0,15	-	-	-	
<i>Eucalyptus</i> spp. <sup>e</sup>	32,5±3,04	42,4±2,6	1,30±0,16	0,39±0,74	2,51±1,48	1,70±1,02	1,67±0,92	0,09±0,10	2
<i>Croton</i> sp. <sup>l</sup>	32,30±0,7	40,0±1,1	1,24±0,06	0,4±0,2	4,2±0,5	5,1±0,2	-	0,5±0,3	3
<i>Robinia pseudoacacia</i> <sup>h</sup>	26,30±13,00	43,89±12,90	1,70±0,10	2,00±2,00	2,60±0,70	2,90±0,60	-	0,10 ± 0,10	4
<i>Castanea</i> sp. <sup>i</sup>	26,52±20,70	40,72±22,80	1,50±0,10	0,20±0,20	1,50±0,50	2,80±0,80	-	0,30 ± 0,30	
<i>Brassica</i> sp. <sup>j</sup>	39,64±22,90	37,92±15,20	1,00±0,10	0,10±0,10	0,30±2,60	1,30±0,60	-	ND	
<i>Lavandula latifolia</i> Med. <sup>c</sup>	32,33±13,10	38,46±13,00	1,20±0,10	4,70±2,80	2,60±0,60	1,80±0,50	-	0,10 ± 0,00	
<i>Tilia</i> sp. <sup>l</sup>	32,67±19,00	38,16±23,60	1,20±0,10	0,50±0,60	1,90±0,40	3,20±1,10	-	0,30 ± 0,10	
<i>Helianthus annuus</i> L. <sup>d</sup>	37,90±18,60	39,98±22,60	1,10±0,10	1,10±0,10	1,10±0,40	0,90±0,30	-	ND	
<i>Citrus</i> spp. <sup>b</sup>	26,18*	33,12*	1,27*	1,80*	1,95*	2,87*	18,00*	0,20*	5

(1) Mateo & Bosch-Reig (1998); (2) Da Costa *et al.* (2000); (3) Matos *et al.* (2002); (4) Cotte *et al.* (2004); (5) Ruiz-Matute *et al.* (2008); Nome popular dos tipos de mel: (a) Alecrim (b) Citrus (c) Lavanda (d) Girassol (e) Eucalipto (f) Morrão de candeia (g) Urze (h) Acácia (i) Castanha (j) Rape (l) Tília; SAC = sacarose; MAL = maltose; TUR = turanose; NIG = nigerose; MEB = melebiose; FRU/GLIC = razão frutose / glicose; (-) = não analisado; ND = não detectado; \*não há informação sobre o DP; Todos os resultados estão expressos em g 100 g<sup>-1</sup> de mel.

**ANEXO B. MANUSCRITO SUBMETIDO À REVISTA FOOD CHEMISTRY.**

**STUDY OF THE PRINCIPAL CONSTITUENTS OF TROPICAL ANGICO  
(*ANADENANTHERA SP.*) HONEY FROM ATLANTIC FOREST**

SANTOS, A.<sup>1</sup>, MOREIRA, R.F.A.<sup>1,2</sup>, DE MARIA, C.A.B.<sup>1,2\*</sup>

1- Food and Nutrition Postgraduation Program (UNIRIO)

2- Collective Health Department, Biomedical Institute, Federal University of Rio de Janeiro State (UNIRIO), Rua Frei Caneca 94, terceiro andar, CEP 20211-040, Rio de Janeiro, Brazil

Running title: Angico honey composition from Atlantic forest

\*Corresponding author. Tel/fax; +55-212531-9678

E-mail address: [carreb@uol.com.br](mailto:carreb@uol.com.br) (C.A.B. De Maria)

## **ABSTRACT**

Levels of 18 parameters in tropical angico honeys from atlantic forest are reported. Free proline was significantly ( $p < 0.05$ ) lower compared to that from other honeys from atlantic forest, caatinga and cerrado biomes. Honeys from Atlantic forest and cerrado had a significantly ( $p < 0.05$ ) lower HMF than angico. Fructose and glucose were slightly higher than that from cerrado and significantly ( $p < 0.05$ ) higher than that from caatinga. Mean values for turanose, nigerose, sucrose, isomaltose, maltotriose, panose and raffinose in angico were significantly ( $p < 0.05$ ) different than those from other honeys from atlantic forest and caatinga. Use of cluster analysis permitted to group three kinds of honey into independent groups. Angico was closest to other honey from atlantic forest and both were distant from caatinga honey. GC/SNIFFING showed that linalool oxide, 2-ethylhexanol, phenylethanol and phenylacetic acid may be important contributors to the angico flavour.

Keywords: atlantic forest, angico, non-volatile fraction, volatiles

## 1 INTRODUCTION

The great variety of climate and the extremely rich flora of Brazil make possible the production of *Apis mellifera* unifloral honeys with unique characteristics. Some of them are uncommon and, in the most cases, their chemical composition is unknown. Among the unusual tropical honeys we have the angico (*Anadenanthera* sp.). It is light in color with a pleasingly mild flavor and aroma. Although the plant readily adapts adverse environmental conditions, it is not easily found, probably due to its large use in both charcoal production and rural construction. An important step for species conservation and sustainable forest management would stimulate beekeeping.

A way to make the angico honey economically attractive is to know its chemical composition. Over the past twenty five years some authors have reported the chemical composition of Brazilian tropical honeys from different biomes, among these, *Mimosa verrucosa* (jurema branca), *Mimosa caesalpiniaefolia* (sansão do campo) and *Anacardium occidentale* (caju) in caatinga (Brazilian savanna) (Moreira, Trugo, Pietroluongo & de Maria, 2002; Sodré, Marchini, Moreti, Otsuk & de Carvalho, 2011), *Piptadenia moniliformis* (catanduba), *Croton* sp. (morrão de candeia) and *Gochnatia velutina* (cambará) in atlantic Forest (Moreira & de Maria, 2005; Sant'Ana, Sousa, Salgueiro, Lorenzon & Castro, 2011), *Vernonia* sp. (assa-peixe) and *Schinus* sp. (aroeira) in cerrado (Costa et al., 1999; da Costa Leite et al., 2000; Matos, Moreira, Trugo & de Maria, 2002; Ribeiro, Moreira & de Maria, 2008). According to these studies some parameters were described as well as their chemical changes during honey storage in tropical conditions (Moreira, de Maria, Pietroluongo & Trugo, 2007 and 2010). Researchers also have focused their efforts not only to determine the chemical composition, but also to use it to typify both geographical and botanical

origin (Mateo & Bosch-Reig, 1997; Kropf et al., 2010; Kaskonienė & Venskutonis, 2010; Sant'Ana et al., 2011).

Beekeeping practice is a powerful conservation action, as well as a development option that can improve the people living conditions. In this context, studies of the chemical composition of exotic floral honeys from species found in threatened biomes will help keep the trees standing. The present study aimed to analyze some chemical parameters of genuine angico honey samples.

## **2 MATERIAL AND METHODS**

### **2.1 REAGENTS**

Methanol and acetonitrile were of HPLC grade from Fluka (Switzerland). Standards of fructose, glucose, oligosaccharides and 3-methylbutanoic acid were from Sigma (USA). Benzoic acid was from Carlo Erba (Italy). Hydroxymethylfurfural (HMF) and hydrocarbons were supplied by Merck (Germany). Other reagents were from Aldrich (USA). Hydrocarbon standards were dissolved in benzene at a concentration of 1 mg mL<sup>-1</sup>. Other volatile standards were dissolved in acetone at the same concentration.

### **2.2 SAMPLES**

Six fresh authentic *Apis mellifera* honey samples of angico were obtained of remaining areas of Atlantic Forest in southern Brazil. All samples were classified as fresh honeys because HMF content did not exceed 40 mg Kg<sup>-1</sup> and diastase values were above 8°G. Samples were stored in plastic bottles at – 18°C under N<sub>2</sub> atmosphere. Before analysis, crystallized honeys were defrosted at 30°C and homogenized by gently stirring thoroughly for 5 min. Samples were analyzed in the same year of collection. Determination of floral type was based on pollen analyses described elsewhere (Louveaux, Maurizio & Varwohl, 1978).

### **2.3 NON-VOLATILE COMPOUNDS ANALYSIS**

Diastase activity was measured in a spectrophotometer Bell photonic (USA) according to the AOAC Official method 31.126 (AOAC). Results were calculated (as Gothe's degrees - °G) as ml of 1 % starch hydrolysed by an enzyme in 1 g honey in 1 h. Photometrical analysis of free proline followed the AOAC Official method 31.126. Results were expressed as mg proline/Kg. Water in honeys was determined by refractometry following the AOAC Official method 31.119 using an Abbé Refractometer Carl Zeiss (Germany) and obtaining correspondent % water from the Chataway table. Total acidity was analysed by the titrimetric method using 0.1N NaOH according to the AOAC Official method 16.023. Results were expressed as milliequiv. NaOH Kg<sup>-1</sup>. HMF analysis was based on the modified SPE - HPLC method (Costa et al., 1999). A 30 % honey solution was clarified adding 0.5 ml of each Carrez I and II solutions and the mixture was centrifuged at 2000 x g for 10 min. One milliliter of clear supernatant was passed through the Sep-PAK C-18 cartridge Waters (USA) which was previously conditioned with 2 ml of methanol followed by 5 ml of distilled water before use. After washing the cartridge with 0.5 ml of hexane, the HMF was eluted twice with 5 ml of ethyl acetate and dried with anhydrous sodium sulphate. A C-18 column (250 x 4 mm, i.d., Supelco - USA) was used with acetonitrile:water (15:85, v/v at 1.0 ml min<sup>-1</sup>) as mobile phase and detection of the effluent was at 280 nm. Carbohydrates were analysed by HPLC with refractive index (RI) detector (Waters, USA) based on the modified work (da Costa Leite et al., 2000). For monosaccharides, a 0.5 % (v/v) honey solution was prepared and diluted with pure acetonitrile in the proportion 1:1 (v/v), and the mixture centrifuged for 5 min. A NH<sub>2</sub> column (250 x 4 mm, i.d., Merck - Brazil) was used with acetonitrile:water (85:15, v/v) at 1.3 ml min<sup>-1</sup>. For oligosaccharides, the conditions were the same except that was prepared a 5 % (v/v) honey solution. Each standard was injected

separately, and both the standard mixture and a honey sample were spiked with each individual sugar in order to identify the peak related to each carbohydrate. Quantification was achieved by peak height comparison with standards of HMF (kept in the dark) or carbohydrates. Results were expressed as mg HMF Kg<sup>-1</sup> or g % for each sugar. Undetectable levels have been considered as zero for calculation purposes.

#### 2.4 ISOLATION OF VOLATILE COMPOUNDS

The procedure was based on previous method (Moreira & De Maria, 2005). The 100 mL of honey aqueous solution (20 g%, w/v) containing 50 mg of n-pentanol as an internal standard was passed through a glass column (0.5 cm i.d. x 18 cm) packed with Porapak Q adsorbent (50/80 mesh) from Supelco (USA). The polymer was previously conditioned at 225°C for 3 h under a N<sub>2</sub> flow rate of 0.9-1.0 L min<sup>-1</sup>. After, the column was inverted and washed with 20 mL of bidistilled water to remove sugar compounds. Adsorbed volatiles were eluted with 100 mL of acetone, and the eluate was concentrated to 2 mL in a rotary evaporator at 20°C.

#### 2.5 GC/MS/SNIFFING ANALYSIS

Chromatographic analysis was carried out on a 60 m x 0.25 mm Supelcowax 10 fused-silica polar phase capillary column (film thickness, 0.25 µm) from Supelco (USA). The injector temperature was 230°C. Temperature program used for the column was as follows: initial temperature of 50°C, programmed to increase at 3°C min<sup>-1</sup> to a maximum of 240°C. This last temperature was holden during 30 min. The linear flow rate of helium was 28 cm s<sup>-1</sup>. The column was directly connected to a quadrupole mass spectrometer Shimadzu (Japan). Equipment was operated at an ionization voltage of 70 eV, an ion source temperature of 240°C and a mass range of 20-300. Identification of the volatiles was achieved by comparing mass spectra of



unknown peaks with those stored in the National Institute of Standards and Technology 12.lib and 62.lib data systems. Only the compounds identified using at least reference standards and mass spectral data were considered to be definitely identified.

For GC-SNIFFING, the same capillary column and program conditions mentioned previously were used, splitting the effluent 1:10 with a glass-cap-closs for FID at 240°C, as well as for simultaneous odor perception by means of an artisanal SNIFFING-PORT. Olfactive perception of the separated volatiles from samples and standards was performed freely by three testers. Modified Kóvatz Indices (KI) were calculated in accordance with Van Den Dool and Kratz (1963).

## 2.6 STATISTICAL APPROACH

Statistical analysis of data was performed by one way analysis of variance (at the 0.05 significance level) (OriginPro version 8.1.10.86) and by the means of agglomerative hierarchical cluster analysis (XLSTAT version 2013.2.07). Clustering method comprises a chemometric technique that involves a measurement of either the distance or similarity between the objects to be clustered (Terrab, González-Miret & Heredia, 2003).

## 3 RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows, for each angico honey, contents of diverse chemical parameters. Only basic statistic has been applied because these variables were not a practical way to characterize honeys probably due to either sample size or because most parameters showed no statistically significant differences. The water contents was in the range of 15.80-18.00 % which agreed with those found in honeys of different floral types from caatinga biome (16.40-19.00 %) (Sodré et al., 2011), but were lower than those of the atlantic forest from southeastern Brazil (18.00 to 20.00 %) (Costa et

al., 1999; da Costa Leite et al., 2000) and from Lithuania (18.80 to 20.20%) (Stelmakienė, Ramanauskienė, Briedis & Leskauskaitė, 2012). The total acidity of the analysed samples showed a variation of 16.40-18.00 millieq Kg<sup>-1</sup> which was according to that found in atlantic forest of southeastern (15.60-17.90 millieq Kg<sup>-1</sup>) (Costa et al., 1999). These results on the other hand were different from those of the caatinga biome that showed a wide variation of 10.00-53.80 millieq Kg<sup>-1</sup> (Moreira et al., 2002, Sodr  et al., 2011). This substantial variation was favored by high acidity (51.00-53.80 millieq Kg<sup>-1</sup>) normally found in caju honeys. Free proline content fell within the limit of 295-450 mg Kg<sup>-1</sup> which was significantly ( $p < 0.05$ ) lower in comparison with that from morrão de candeia (657-771 mg Kg<sup>-1</sup>), assa-peixe (633-737 mg Kg<sup>-1</sup>) and caju (1323-1481 mg Kg<sup>-1</sup>) honeys from atlantic forest, cerrado (Matos et al., 2002) and caatinga (Moreira et al., 2002) biomes, respectively, but was higher than that from European honeys (189-292 mg Kg<sup>-1</sup>) (Janiszewska, Aniołowska & Nowakowski, 2012). The higher proline value in some varieties possibly reflects the intensive labor of Brazilian bees on the collected nectar by adding gland secretions. HMF in angico samples showed a lower variation (13.40-17.20 mg Kg<sup>-1</sup>) than that found in honeys of different floral types from caatinga biome (3.90-24.60 mg Kg<sup>-1</sup>) (Sodr  et al., 2011) and that from Portugal (1.31-13.84 mg Kg<sup>-1</sup>) (Iglesias et al., 2012). In contrast, morrão de candeia (4.5-6.1 mg Kg<sup>-1</sup>) and assa-peixe (2.6-3.8 mg Kg<sup>-1</sup>) honeys from atlantic forest and cerrado biome, respectively had a significantly ( $p < 0.05$ ) lower HMF level (Matos, et al., 2002). Diastase activity lay in the range of 11.4-12.4 °G which was lower than that from morrão de candeia (13.2-16.7 °G) and assa-peixe (13.2-18.5 °G) honeys from atlantic forest and cerrado biome (Matos, et al., 2002), respectively and from Portugal (10-25 °G) (Fe s, Vázquez-Tato, Estevinho, Seijas & Iglesias, 2010). Conversely, diastase activity in angico honeys was higher

than that found in honeys of different floral types from caatinga biome (5.30-12.70 °G) (Ricardo et al., 2002, Sodr  et al., 2011). Fructose and glucose contents were in the range of 41.90-43.30 % and 32.60-34.20 %, respectively which were slightly higher than those from morrão de candeia (38.9-41.1 %; 31.6-33.0 %) and assa-peixe (38.6-41.0 %; 31.4-32.8 %) honeys from atlantic forest and cerrado (Matos et al., 2002), respectively and significantly ( $p < 0.05$ ) higher than those from caju (32.8-33.8 %; 25.8-26.9 %) and marmeleiro ((38.2-39.1 %; 25.8-27.0 %) from caatinga biome (Moreira et al. 2002) and echium (34.0-38.4 %; 27.8-34.9 %) and chestnut (30.1-33.3 %; 24.74-28.76 %) from Spain (León-Ruiz, Vera, González-Porto & Andr s, 2011). Lower content of monosaccharides in honeys from caatinga biome could be explained by the low activity of the invertase when samples are exposed to hot environment of the semi-arid. The same seems to happen with diastase activity. In previous report (Moreira et al. 2007), fresh pure honeys from caatinga biome were submitted to storage for 3 or 6 months at 35-40°C. There was a reduction of the diastatic activity and furthermore, neither hexose content nor transglycosylation reaction catalyzed by invertase increased on sample heating under controlled conditions.

Oligosaccharides parameters have shown to be useful as an auxiliary tool for the differentiation of two or more kinds of honey (Mateo & Bosch-Reig, 1997; Morales, Corzo & Sanz, 2008). Based on this principle, the profile of oligosaccharides from angico honey was compared with those of the morrão de candeia from atlantic forest of southeastern Brazil and marmeleiro from caatinga biomes published elsewhere (da Costa Leite et al., 2000; Matos et al., 2002; Moreira et al., 2002). Regarding to the variability of the data, Table 2 shows individual and mean values and SD for all the oligosaccharides found in the three unifloral honeys. Maltose (mean value = 3.98

%) was the major disaccharide found in angico, which was in accordance with morrão de candeia (4.02 %), marmeleiro (2.07 %) and Spanish honeys (3.96 %) (Mateo & Bosch-Reig, 1997). Maltotriose was not encountered in angico but reached mean values of 0.22 % and 0.57 % in morrão de candeia e marmeleiro, respectivamente, and 0.01 % in citrus honey from USA (Ruiz-Matute, Ramos, Martínez-Castro & Sanz, 2008). The mean values for turanose, nigerose, sucrose, isomaltose, maltotriose, panose and raffinose in angico were significantly different ( $p < 0.05$ ) than those from morrão de candeia and marmeleiro. Although the sampling was small, it was possible to find significant differences among the three kinds of honey based on 70% of the oligosaccharides analyzed. Thus, a study of the structure of the data by cluster analysis was carried out. The search for natural groupings among the samples is one preliminary way to study the data structure. The results presented as a dendogram were able to show the presence of honey clusters (Figure 1). The closeness of objects in p-space seems to reflect the similarity of their properties. The three kinds of honey were grouped into independent clusters but angico was closest to the morrão de candeia and both were distant from marmeleiro. Angico and morrão de candeia are plants that can be found in the atlantic forest while the marmeleiro is typical of semi-arid regions as the caatinga biome. Figure 2 shows the profile of classes in which it can be seen that turanose, nigerose, panose and isomaltose are major contributors to the differentiation of samples. These findings indicate that cluster analysis appears to be able to group Brazilian tropical honeys in accordance with floral type.

Volatile fraction composition of the angico is presented in Table 3. Sixteen compounds were identified, eleven of which were definitively identified via reference substances, mass spectra library and KI. Although external and internal

standardizations were used, no method recovery or GC standardization corrections were applied, and thus, the results presented are estimated values. Linalool oxide (trans-furanoid) (12.2-16.1 ppb) was by far the most abundant volatile, followed by phenylethanol (3.3-6.1 ppb), tetracosane (3.1-5.7 ppb) and 2-ethylhexanol (3.3-4.9 ppb) which differed of the cambará honey from atlantic forest of southeastern (Moreira and De Maria, 2005) that showed values of 9.2-13.9 ppb and <0.01 ppb for 2-ethylethanol and phenylethanol, respectively. Linalool oxide (trans-furanoid) has been found in very low concentration in caju and marmeleiro honeys from caatinga biome (Moreira et al. 2002). Odouriferous perception of sample volatiles and pure standards through the GC/SNIFFING technique permitted the perception of linalool oxide (trans-furanoid) (flower, hay-like notes), 2-ethylhexanol (green), phenylethanol (floral, spicy) and phenyl acetic acid (sweet, honey). Phenylethanol has been considered to be important odourant to the aroma of linden and haze honeys from Europa (Blank, Fischer & Grosch, 1989) and caju (caatinga biome) (Ricardo et al., 2002), morrão de candeia (atlantic forest) and assa-peixe (cerrado biome) (Matos et al., 2002) honeys from Brazil. Phenylacetic acid has already been identified as an important contributor to heather and rape from Europa (Cuevas-Glory, Pino, Santiago, Sauri-Duch, 2007), caju and marmeleiro from caatinga biome (Ricardo et al. 2002) and cambará honey from atlantic forest (Moreira & De Maria, 2005). Hotrienol reported here, has not been previously described as a Brazilian honey constituent.

#### **4 CONCLUSION**

All samples were found to meet honeys quality European Legislation (EC Directive 2001/110) and Brazilian Legal regulations. There was great variability in chemical parameters of angico described here when compared to other Brazilian and foreigner

honeys. However, it was possible to observe that angico showed higher values in fructose, glucose and HMF and lower values for proline and diastase than other tropical honeys and that these differences were independent of the biome. The composition of clusters indicated that the oligosaccharide profile could contain useful information in achieving classification not only to tropical honeys from different floral types from the different biomes as also from the same biome. The information obtained in the current work showed that linalool oxide (trans-furanoid), 2-ethylhexanol, phenylethanol and phenylacetic acid may be important contributors to the angico honey flavour. Hotrienol and maltotriose may be useful in future to testing the angico authenticity. Angico is an exotic tropical honey that has great potential to boost the beekeeping in tropical biomes subject to anthropogenic pressure and therefore help to keep trees standing.

## **5 ACKNOWLEDGEMENTS**

We acknowledge financial support from Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). We thank Dr Ortrud M. Barth by the floral type analysis.

## **6 REFERENCES**

- AOAC (1984). Official methods of analysis (14th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Iank, I., Fischer, K. H., & Grosch, W. (1989). Intensive neutral odourants of linden honey. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A*, 189, 426-433.
- Costa, L. S. M., Albuquerque, M. L. S., Trugo L. C., Quinteiro L. M. C., Barth, O. M., Ribeiro, M., & De Maria, C. A. B. (1999). Determination of non-volatile compounds of different botanical origin Brazilian honeys. *Food Chemistry*, 65, 347-352

Cuevas-Glory, L. F., Pino, J. A., Santiago, L. S., & Sauri-Duch, E. (2007). A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry*, *103*, 1032–1043.

Da Costa Leite, J. M., Trugo L. C., Costa, L. M. C., Quinteiro L. M. C., Albuquerque, M. L. S., Barth, Dutra, V. M. L., & De Maria, C. A. B. (1999). Determination of non-volatile compounds of different botanical origin Brazilian honeys. *Food Chemistry*, *70*, 93-98

Feás, X., Pires, J., Iglesias, A., & Estevinho, M. L. (2010). Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. *Food and Chemical Toxicology*, *48*, 3462–3470.

Iglesias, A., Feás, X., Rodrigues, S., Seijas, J. A., Vázquez-Tato, M. P., Dias, L. G., & Estevinho, L. M. (2012). Comprehensive Study of Honey with Protected Denomination of Origin and Contribution to the Enhancement of Legal Specifications. *Molecules*, *17*, 8561-8577.

Kaskonien, V., & Venskutonis, P. R. (2010). Floral Markers in Honey of Various Botanical and Geographic Origins: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *9*, 620-634.

Kropf, U., Korošec, M., Bertoneclj, J., Ogrinc, N., Necemer, M., Kump, P., Golob, T. (2010). Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. *Food Chemistry*, *121*, 839–846.

Janiszewska, K., Aniołowska, M., & Nowakowski, P. (2012). Free Amino Acids Content of Honeys from Poland. *Polish Journal of Food Nutrition Sciences*, *62*, 85-89.

León-Ruiz, V., Soledad, V., González-Porto, A. V., & San Andrés, M. P. (2011). Vitamin C and Sugar Levels as Simple Markers for Discriminating Spanish Honey Sources. *Journal of Food Science*, *76*, 356-361.

- Louveaux, J., Maurizio, A., & Varwohl, G. (1978). Methods of Melissopalynology. *Bee World*, 59, 139-157.
- Mateo, R., & Bosch-Reig, F. (1997). Sugar profiles of Spanish unifloral honeys. *Food Chemistry*, 60, 33-41.
- Matos, L. M. C., Moreira, R. F. A., Trugo L. C., & De Maria, C. A. B. (2002). Aroma Compounds in Morrão de Candeia (croton sp.) and Assa-peixe (Vergonia sp.) Honeys. *Italian Journal Food Science*, 3, 267-278.
- Morales, V., Corzo, N., & Sanz, M. L. (2008). HPAEC-PAD oligosaccharide analysis to detect adulterations of honey with sugar syrups. *Food Chemistry*, 107, 922-928.
- Moreira, R. F. A., & De Maria, C. A. B. (2005). Investigation of the aroma compounds from headspace and aqueous solution from the cambará (*Gochnatia velutina*) honey. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 13-17.
- Moreira, R. F. A., De Maria, C. A. B., Pietroluongo, M., & Trugo, L. C. (2007). Chemical changes in the non-volatile fraction of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. *Food Chemistry*, 104, 1236-1241.
- Moreira, R. F. A., De Maria, C. A. B., Pietroluongo, M., & Trugo, L. C. (2010). Chemical changes in the volatile fractions of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. *Food Chemistry*, 121, 697-704.
- Moreira, R. F. A., Trugo, L. C., Pietroluongo, M., & De Maria, C. A. B. (2002). Flavor composition of cashew (*Anacardium occidentale*) and marmeleiro (*Croton* sp) Honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7616-7621.
- Ribeiro, M. C., Moreira, R. F. A., & De Maria, C. A. B. (2008). Volatile profile of the headspace fraction of “assa-peixe” (*Vernonia* sp) honeys. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28, 169-171.



- Ruiz-Matute, A. I., Ramos, L., Martínez-Castro, I., & Sanz, M. L. (2008). Fractionation of Honey Carbohydrates Using Pressurized Liquid Extraction with Activated Charcoal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*, 8309-8313.
- Sant'Ana, L. D., Sousa, J. P. L. M., Salgueiro, F. B., Lorenzon, M. C. A., & Castro, R. M. (2012). Characterization of Monofloral Honeys with Multivariate Analysis of Their Chemical Profile and Antioxidant Activity. *Journal of Food Science*, *71*, 135-140.
- Sodré, G. S., Marchini, L. C., Camargo, A. C., Moreti, C., Otsuk, I. P., & Carvalho, C. A. L. R. (2011). Physico-chemical characteristics of honey produced by *Apis mellifera* in the Picos region, state of Piauí, Brazil. *Revista Brasileira de Zootecologia*, *40*, 1837-1843.
- Stelmakienė, A., Ramanauskienė, K., Briedis, V., & Leskauskaitė, D. (2012). Examination of rheological and physicochemical characteristics in Lithuanian honey. *African Journal of Biotechnology*, *11*, 12406-12414.
- Terrab, A., González-Miret, L., & Heredia, F.J. (2004). Colour characterisation of thyme and avocado honeys by diffuse reflectance spectrophotometry and spectroradiometry. *European Food Research and Technology*, *218*, 488-492.
- Van Den Dool, H., & Kratz, P. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*, *11*, 463-471.

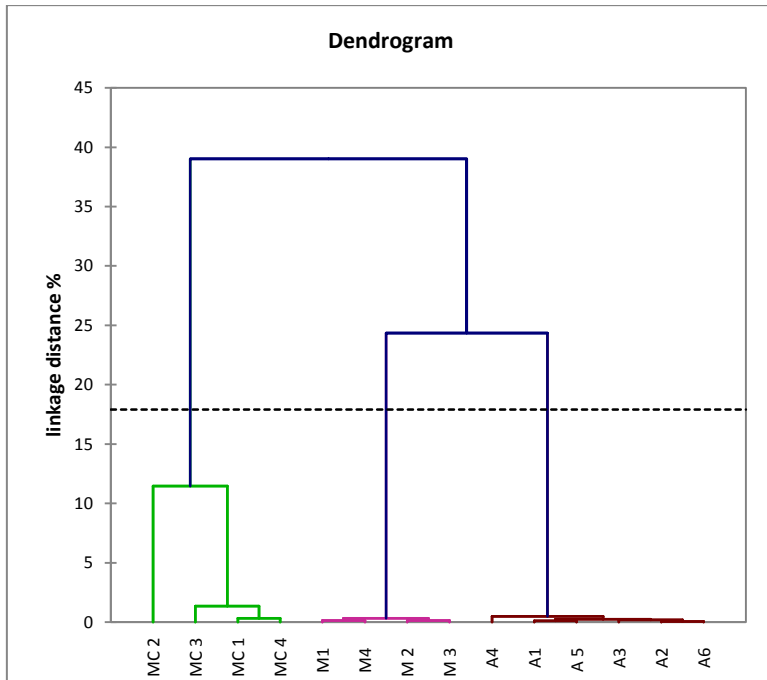


Figure 1. Dendrogram of cluster analysis of tropical honey samples.

A - angico (atlantic Forest of southern)

MC – morrão de candeia (atlantic forest of southeastern)

M –marmeleiro ((caatinga biome)

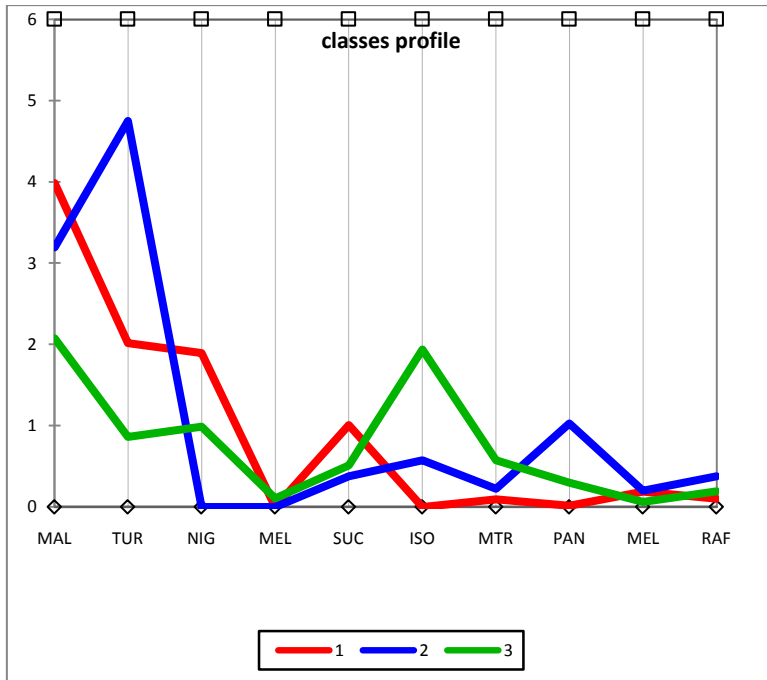


Figure 2. Profile of classes from tropical honey samples.

1- angico (atlantic Forest of southern)

2- morrão de candeia (atlantic Forest of southeastern)

3- marmeleiro (caatinga biome)

Table 1. Levels of chemical parameters in angico tropical honey samples.

<b>Samples</b>	<b>Water (%)</b>	<b>proline (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Total acidity (millieq. Kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Diastase (°G)</b>	<b>HMF (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Fructose (g%)</b>	<b>Glicose (g%)</b>	<b>Fru/Gli</b>
<b>A1</b>	18.00	320.00	16.40	12.20	15.10	42.10	34.10	1.23
<b>A2</b>	16.00	450.00	17.10	11.70	17.20	43.00	33.30	1.29
<b>A3</b>	17.80	295.00	17.60	10.20	13.40	42.70	32.60	1.31
<b>A4</b>	15.80	342.00	16.70	12.40	16.00	43.30	34.20	1.27
<b>A5</b>	16.50	373.00	18.00	11.20	13.80	42.40	33.00	1.28
<b>A6</b>	17.00	357.00	17.50	10.80	14.70	41.90	32.90	1.27
<b>Mean</b>	16.75	349.50	17.30	11.45	14.90	42.55	33.15	1.28
<b>SD</b>	0.92	53.55	0.60	0.84	1.41	0.54	0.66	0.03

Data are given as mean values of six independent experiments with two replicates each

A – angico samples °G – Gothe’s degree HMF – hydroxymethylfurfural

Fru/Gli – ratio fructose/glucose SD – standard deviation

Table 2. Oligosacharides profiles in angico<sup>\*</sup>, morrão de candeia<sup>\*\*</sup> and marmeleiro<sup>\*\*\*</sup> tropical honeys.

Samples	MAL	TUR	NIG	MEB	SUC	ISO	MTR	PAN	MEL	RAF
<b>A1</b>	3.51	1.95	1.80	0.00	0.83	0.00	0.10	0.02	0.21	0.15
<b>A2</b>	4.12	1.76	2.15	0.00	0.97	0.00	0.12	0.00	0.17	0.09
<b>A3</b>	3.97	2.31	1.79	0.00	1.04	0.00	0.07	0.03	0.23	0.06
<b>A4</b>	4.54	2.17	1.66	0.00	1.09	0.00	0.05	0.02	0.15	0.11
<b>A5</b>	3.76	1.86	1.93	0.00	1.16	0.00	0.14	0.00	0.21	0.10
<b>A6</b>	4.00	2.05	2.03	0.00	0.95	0.00	0.08	0.01	0.16	0.09
<b>Mean<sup>*</sup></b>	3.99 <sup>a</sup>	2.00 <sup>a</sup>	1.87 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	1.01 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.02 <sup>a</sup>	0.19 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>
<b>SD</b>	0.35	0.20	0.18	0.00	0.12	0.00	0.03	0.01	0.03	0.03
<b>MC1</b>	4.70	4.90	0.00	0.00	0.60	0.70	0.20	0.50	0.20	0.20
<b>MC2</b>	3.70	5.30	0.00	0.00	0.20	0.30	0.20	1.50	0.20	0.40
<b>MC3</b>	3.50	4.00	0.00	0.00	0.40	0.50	0.40	1.20	0.30	0.40
<b>MC4</b>	4.20	4.80	0.00	0.00	0.30	0.80	0.10	0.90	0.10	0.50
<b>Mean<sup>**</sup></b>	3.85 <sup>a</sup>	4.85 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>a</sup>	0.35 <sup>b</sup>	0.60 <sup>b</sup>	0.20 <sup>b</sup>	1.05 <sup>b</sup>	0.20 <sup>a</sup>	0.40 <sup>b</sup>
<b>SD</b>	1.94	0.54	0.00	0.00	0.17	0.22	0.13	0.43	0.08	0.13
<b>M1</b>	1.80	0.78	0.90	0.14	0.48	1.60	0.50	0.26	0.03	0.16
<b>M2</b>	2.40	0.90	1.10	0.06	0.52	2.20	0.70	0.34	0.10	0.22
<b>M3</b>	1.90	0.85	1.15	0.13	0.51	2.10	0.60	0.32	0.07	0.17
<b>M4</b>	2.20	0.91	0.80	0.09	0.54	1.85	0.50	0.27	0.04	0.21
<b>Mean<sup>***</sup></b>	2.05 <sup>b</sup>	0.88 <sup>c</sup>	1.00 <sup>c</sup>	0.11 <sup>b</sup>	0.52 <sup>b</sup>	1.98 <sup>c</sup>	0.55 <sup>c</sup>	0.30 <sup>c</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.19 <sup>c</sup>
<b>SD</b>	0.28	0.06	0.17	0.04	0.03	0.27	0.10	0.04	0.03	0.03

Mean values in each column with different superscripts are significantly different

at  $p < 0.05$  A- angico samples (atlantic forest of southern)

MC – morrão de candeia samples (atlantic forest of southeastern)

M - marmeleiro samples (caatinga biome)

\*Data are given as mean values of six independent experiments with two replicates

\*\*Results were obtained of reports published elsewhere (da Costa Leite et al. 2000; Matos et al., 2002)

\*\*\*Results were obtained of reports published elsewhere (da Costa Leite et al.,

2000; Moreira et al., 2002) SD – standard deviation

MAL - maltose TUR – turanose NIG – nigerose MEB - melibiose

SUC - sucrose ISO – isomaltose MTR – maltotriose

PAN - panose MEL - melezitose RAF – rafinose

Table 3. Volatile composition of angico honeys.

Compounds	KI	Concentration (ppb, AVG ± SD)	Odour perception
Trans-linalool oxide <sup>a</sup>	1449	14.3±1.6	Flower, hay-like
2-ethyl-1-hexanol <sup>a</sup>	1498	4.2±0.5	Green
Hexadecane <sup>a</sup>	1600	1.1±0.5	-
Hotrienol <sup>b</sup>	1630	-	-
2-methyl-butanoic acid <sup>a</sup>	1670	<0.01	-
Phenylethanol <sup>a</sup>	1942	4.4±0.9	Floral, spicy
3-hexenyl-hexanoate <sup>b</sup>	1948	-	-
Heneicosane <sup>a</sup>	2059	1.5±0.4	-
1-hydroxylinalool <sup>b</sup>	2129	-	-
Tetracosane <sup>a</sup>	2405	4.5±1.0	-
Benzoic acid <sup>a</sup>	-	3.7±0.5	-
Phenylacetic acid <sup>a</sup>	-	2.7±0.5	Honey, sweet
Hexacosane <sup>a</sup>	-	1.2±0.4	-
Phenylpropanedioic acid <sup>a</sup>	-	2.5±0.6	-
Hexadecanoic acid <sup>a</sup>	-	<0.01	-
4-methoxy-phenylacetic acid <sup>b</sup>	-	-	-

KI – Kovatz Index      AVG – average      SD – standard deviation

a – Definitive identification: via mass spectra + reference compound

b – Tentative identification: based on only mass spectra data

The average and standard deviation were established by the values found in six different samples

**ANEXO C. RESUMO APRESENTADO NA FORMA DE PÔSTER NO 10º SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS (SLACA), CAMPINAS, 2013, SOB O TÍTULO: STUDY OF THE PRINCIPAL CONSTITUENTS OF TROPICAL ANGICO (ANADENANTHERA SP.) HONEY FROM ATLANTIC FOREST. AUTORES: ÂNDRIA SANTOS, RICARDO FELIPE ALVES MOREIRA E CARLOS A. B. DE MARIA**

## STUDY OF THE PRINCIPAL CONSTITUENTS OF TROPICAL ANGICO (*ANADENANTHERA* SP.) HONEY FROM ATLANTIC FOREST

SANTOS, Â.<sup>a,\*</sup>, MOREIRA, R.F.A.<sup>a,b</sup>, DE MARIA, C.A.B.<sup>a,b</sup>

\*andria.nutricionista@gmail.com

<sup>a</sup>Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição (PPGAN), <sup>b</sup>Departamento de Saúde Coletiva (DSC), Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rua Frei Caneca 94, quarto andar, CEP 20211-040, Rio de Janeiro, Brasil

Keywords: atlantic forest, angico, non-volatile fraction

### INTRODUCTION

Among the unusual tropical honeys we have the angico (*Anadenanthera* sp.). It is light in color with a pleasingly mild flavor and aroma. Although the plant readily adapts adverse environmental conditions, it is not easily found, probably due to its large use in both charcoal production and rural construction. An important step for species conservation and sustainable forest management would stimulate beekeeping. A way to make the angico honey economically attractive is to know its chemical composition. Over the past twenty five years some authors have reported the chemical composition of Brazilian tropical honeys from different biomes (Costa et al., 1999; Da Costa Leite et al., 2000; Moreira & De Maria, 2005; Ribeiro et al., 2008). According to these studies some parameters were described as well as their chemical changes during honey storage in tropical conditions. Researchers also have focused their efforts not only to determine the chemical composition, but also to use it to typify both geographical and botanical origin. Beekeeping practice is a powerful conservation action, as well as a development option that can improve the people living conditions. In this context, studies of the chemical composition of exotic floral honeys from species found in threatened biomes will help keep the trees standing. **Objective:** The present study aimed to analyze some chemical parameters of genuine angico honey samples.

### MATERIALS AND METHODS

#### SAMPLES

Six fresh authentic *Apis mellifera* honey samples of angico were obtained of remaining areas of Atlantic Forest in southern Brazil. All samples were classified as fresh honeys because HMF content did not exceed 40 mg Kg<sup>-1</sup> and diastase values were above 8°G.

#### NON-VOLATILE COMPOUNDS ANALYSIS

Diastase activity, proline, water and total acidity was according to the AOAC Official method. HMF analysis was based on the modified SPE - HPLC method (Costa et al., 1999). Carbohydrates were analysed by HPLC with refractive index (RI) detector based on the modified work (da Costa Leite et al., 2000).

#### ISOLATION OF VOLATILE COMPOUNDS

The procedure was based on previous method (Ribeiro et al., 2008).

#### GC/MS/SNIFFING ANALYSIS

It was based on previous method (Moreira & De Maria, 2005).

### STATISTICAL APPROACH

Data were submitted to one way analysis of variance (at the 0.05 significance level) and by the means of agglomerative hierarchical cluster analysis (XLSTAT version 2013.2.07).

### RESULTS AND DISCUSSION

The higher proline value in some varieties possibly reflects the intensive labor of Brazilian bees on the collected nectar by adding gland secretions. Diastase activity in angico honeys was higher than that found in honeys of different floral types from caatinga biome. Fructose and glucose contents were in the range of 41.90-43.30% and 32.60-34.20%, respectively which were significantly ( $p < 0.05$ ) higher than those from caju (32.8-33.8%; 25.8-26.9%) and marmeleiro (38.2-39.1%; 25.8-27.0%). Lower content of monosaccharides in honeys from caatinga biome could be explained by the low activity of the invertase when samples are exposed to hot environment of the semi-arid. The same seems to happen with diastase activity. Table 1 shows individual and mean values and SD for all the oligosaccharides found in the three unifloral honeys. Although the sampling was small, it was possible to find significant differences among the three kinds of honey based on 70% of the oligosaccharides analyzed. Thus, a study of the structure of the data by cluster analysis was carried out. The results presented as a dendrogram were able to show the presence of honey clusters (Figure 1).

### CONCLUSIONS

It was possible to observe that angico showed higher values in fructose, glucose and HMF and lower values for proline and diastase than other tropical honeys and that these differences were independent of the biome. The composition of clusters indicated that the oligosaccharide profile could contain useful information in achieving classification not only to tropical honeys from different floral types from the different biomes as also from the same biome.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

### REFERENCES

- Costa, L. S. M., Albuquerque, M. L. S., Trugo L. C., Quinteiro L. M. C., Barth, O. M., Ribeiro, M., & De Maria, C. A. B. (1999). *Food Chemistry*, 65, 347-352.
- Da Costa Leite, J. M., Trugo L. C., Costa, L. M. C., Quinteiro L. M. C., Albuquerque, M. L. S., Barth, Dutra, V. M. L., & De Maria, C. A. B. (2000). *Food Chemistry*, 70, 93-98.
- Moreira, R. F. A., & De Maria, C. A. B. (2005). *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 15-17.
- Ribeiro, M. C., Moreira, R. F. A., & De Maria, C. A. B. (2008). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28, 169-171.

Table 1. Oligosaccharides profiles in angico<sup>a</sup>, morrão de candeia<sup>b</sup> and marmeleiro<sup>c</sup> tropical honeys.

Samples	MAL	TUR	NIG	MEB	SUC	ISO	MTR	PAN	MEL	RAF
A1	3.51	1.95	1.80	0.00	0.83	0.00	0.10	0.02	0.21	0.15
A2	4.12	1.76	2.15	0.00	0.97	0.00	0.12	0.00	0.17	0.09
A3	3.97	2.31	1.79	0.00	1.04	0.00	0.07	0.03	0.23	0.06
A4	4.54	2.17	1.66	0.00	1.09	0.00	0.05	0.02	0.15	0.11
A5	3.76	1.86	1.93	0.00	1.16	0.00	0.14	0.00	0.21	0.10
A6	4.00	2.05	2.03	0.00	0.95	0.00	0.08	0.01	0.16	0.09
Mean <sup>d</sup>	3.99 <sup>a</sup>	2.00 <sup>a</sup>	1.87 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	1.01 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.02 <sup>a</sup>	0.19 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>
SD	0.35	0.20	0.18	0.00	0.12	0.00	0.03	0.01	0.03	0.03
MC1	4.70	4.90	0.00	0.00	0.60	0.70	0.20	0.50	0.20	0.20
MC2	3.70	5.30	0.00	0.00	0.20	0.30	0.20	1.50	0.20	0.40
MC3	3.50	4.00	0.00	0.00	0.40	0.50	0.40	1.20	0.30	0.40
MC4	4.20	4.80	0.00	0.00	0.30	0.80	0.10	0.90	0.10	0.50
Mean <sup>d</sup>	3.85 <sup>a</sup>	4.85 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	0.35 <sup>b</sup>	0.60 <sup>b</sup>	0.20 <sup>b</sup>	1.05 <sup>b</sup>	0.20 <sup>b</sup>	0.40 <sup>b</sup>
SD	1.94	0.54	0.00	0.00	0.17	0.22	0.13	0.43	0.08	0.13
M1	1.80	0.78	0.90	0.14	0.48	1.60	0.50	0.25	0.03	0.16
M2	2.40	0.90	1.10	0.06	0.52	2.20	0.70	0.34	0.10	0.22
M3	1.90	0.85	1.15	0.13	0.51	2.10	0.60	0.32	0.07	0.17
M4	2.20	0.91	0.80	0.09	0.54	1.85	0.50	0.27	0.04	0.21
Mean <sup>d</sup>	2.05 <sup>a</sup>	0.88 <sup>a</sup>	1.00 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>	0.52 <sup>a</sup>	1.98 <sup>a</sup>	0.55 <sup>a</sup>	0.30 <sup>a</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.19 <sup>a</sup>
SD	0.28	0.06	0.17	0.04	0.03	0.27	0.10	0.04	0.03	0.03

Mean values in each column with different superscripts are significantly different at  $p < 0.05$ . A - angico samples (atlantic forest of southern); MC - morrão de candeia samples (atlantic forest of southeastern); M - marmeleiro samples (caatinga biome).  
<sup>d</sup>Data are given as mean values of six independent experiments with two replicates.

<sup>a</sup>Results were obtained of reports published elsewhere (Da Costa Leite et al., 2000).

<sup>b</sup>Results were obtained of reports published elsewhere (Da Costa Leite et al., 2000).

<sup>c</sup>SD - standard deviation.

MAL - maltose TUR - turanose NIG - nigerose MEB - melibiose

SUC - sucrose ISO - isomaltose MTR - maltotriose

PAN - panose MEL - melitriose RAF - raffinose

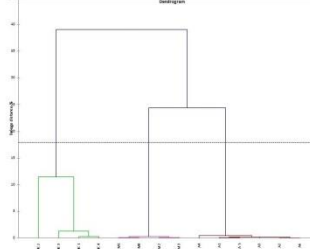


Figure 1. Dendrogram of cluster analysis of tropical honey samples.

A - angico (atlantic Forest of southern)  
 MC - morrão de candeia (atlantic forest of southeastern)  
 M - marmeleiro ((caatinga biome)